Aus der Klinik und Poliklinik für Hals- Nasen- und Ohrenkrankheiten der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. W. Kley

Morphologische und enzymhistochemische Untersuchungen zur Frage der organspezifischen Funktion von praeneo- und neoplastischen Veränderungen an der Gehörgangsdrüse (Zymbaldrüse) der Ratte

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Martin Karl Ruppert

aus

Rieneck (Unterfranken)

8700 Würzburg, den 06.04.1982

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals- Nasen- und Ohrenkrankheiten der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. W. Kley

Morphologische und enzymhistochemische Untersuchungen zur Frage der organspezifischen Funktion von praeneo- und neoplastischen Veränderungen an der Gehörgangsdrüse (Zymbaldrüse) der Ratte

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Martin Karl Ruppert

aus

Rieneck (Unterfranken)

8700 Würzburg, den 06.04.1982

Referent:	Prof.Dr.med. Ingo F. Herrmann
Korreferent:	Prof.Dr.med. Walter Kley
Dekan:	Prof.Dr.med. Karl-August Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 27.7.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Für Annerose und Sven

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543526_0042

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.0	EINLEITUNG	1
2.0.	MATERIAL UND METHODE	5
2.1.	Das Karzinogen Dimethylaminostilben	5
2.2.	Das Tiermaterial	7
2.3.0.	Die histologische und histochemische Methodik	8
2.3.1.	Anfertigung der Serienschnitte	8
2.3.2.	Durchführung der enzymhistochemischen und histologischen Färbungen	8
2.3.3.	Die Sudan-III-Färbung	9
2.4.	Die Einteilung der Stadien anhand histologischer und enzymhistochemischer Parameter	10
2.5.	Photographische Dokumentation	11
3.0	ERGEBNISSE	12
3.1.	Die Gehörgangsdrüse (Zymbaldrüse) der Ratte	12
3.2.	Der stadienhafte Verlauf bei der direkten Karzinogenese am Beispiel der Zymbaldrüse der Ratte	13
3.2.1.	Das normale Enzymmuster der Zymbaldrüse	13
3.2.2.	Morphologie und Histochemie der praeneoplastischen Veränderungen an der Gehörgangsdrüse der Ratte während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese: Stadium I	14
3.2.3.	Stadium II	16
3.2.4.	Stadium III	16
3.2.5.	Stadium IV	21
3.2.6.	Stadium V	22
3.3.	Die Neoplasietypen der Zymbaldrüse	23

Seite

3.3.1. Das papillär wachsende, teilweise verhornende Talgzell - Basalzellkarzinom (Mixed - type Ca) 25
3.3.2. Das (verhornende) Plattenepithel-Karzinom 28
3.3.3. Das kleinzellige (Basalzell-) Karzinom 30
3.3.4. Das undifferenzierte Karzinom 32
3.4. Die Verhornung 32
3.5. Statistische Aufschlüsselung der beobachteten praeneo- und neoplastischen Veränderungen 34

4.0. DISKUSSION 38
4.1. Theorien der Krebsentstehung 38
4.2. Das Karzinogen trans-4-Dimethylaminostilben 44
4.3. Morphologie und Stoffwechselveränderungen während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese 47
4.4. Die Neoplasietypen der Zymbaldrüse 59

5.0. ZUSAMMENFASSUNG 68

6.0. LITERATURVERZEICHNIS 70

1. EINLEITUNG

Schon vor 2000 Jahren war den Ärzten der indischen und ägyptischen Kulturkreise die Krebskrankheit bekannt. Dies beweisen Beschreibungen im altindischen Werk "Ramajana" (ca. 2000 J. v. Chr.) und im altägyptischen "Papyrus Ebers" (ca. 1700 J. v. Chr.) Der Begriff Karzinom -so wird vermutet- führte Hippokrates (460-375 J.v.Chr.) in die medizinische Terminologie ein.
Im Altertum und Mittelalter, sowie in der Neuzeit bis gegen Ende des 19. Jahrhundert, war die Krebsmorbidität relativ gering, da viele Menschen, auf Grund der niedrigen durchschnittlichen Lebenserwartung, "ihren Krebs" nicht mehr erlebten. Erst das 20. Jahrhundert brachte mit seinen Verschiebungen in der Altersstruktur der Bevölkerung, besonders in den hochindustrialisierten Staaten, einen raschen und intensiven Anstieg der Krebsmorbidität und Krebsmortalität mit sich.
Deshalb verwundert es nicht, wenn großangelegte Untersuchungen, die sich mit der Entstehung und Bekämpfung von Geschwulsten beschäftigen, in den letzten Jahren immer mehr in den Mittelpunkt großer Forschungsvorhaben gerückt sind.

Im Rahmen dieser umfangreichen Anstrengungen kommt, neben der klinisch-praktischen Krebsforschung, der experimentellen Tumorforschung eine besondere Bedeutung zu, versucht doch sie, Ursachen und Auswirkungen von Störungen bereits auf der Ebene der Einzelzelle zu erkennen und biochemisch wie morphologisch zu erfassen.

Bereits Virchow erkannte klar die Bedeutung äußerer Einflüsse auf die Entstehung bösartiger Geschwulste. Er war es auch, der darauf hinwies, daß Tumoren dort auftreten, wo chronische Reize auf Zellen und Gewebe einwirken.
Diese als Reiztheorie bekannt gewordene Vorstellung hat maßgeblich dazu beigetragen, daß eine systematische Suche nach den krebserzeugenden Ursachen einsetzte.
Als karzinogene Reize wurden im Laufe der Zeit u.a. Strahlen, Viren und chemische Agentien gefunden.

Schon im Jahre 1775 hatte Pott beobachtet, daß Menschen, die in ihrer Jugend längere Zeit als Kaminfeger gearbeitet hatten, häufiger als die übrige Bevölkerung an Hautkrebs des Hodens erkrankten. Ein direkter Zusammenhang mit der Rußverschmutzung, die sich hier in den Hautfalten länger hielt, war offensichtlich.
Etwa 100 Jahre später entdeckte man, daß Teerarbeiter gehäuft Hautkrebse an Händen und Unterarmen entwickelten.

Schließlich gelang erstmals Yamagiwa und Ichikowa im Jahre 1917 die experimentelle Erzeugung von Hautkrebsen nach langdauernder Teerpinselung am Kaninchen.

Die Analyse der karzinogenen Bestandteile des Teers führten Kennaway und Cook in den Jahren 1930 und 1933 durch. Beide fanden bestimmte aromatische Kohlenwasserstoffe, die sich als Abkömmlinge des Anthrazens erwiesen.

Schon vorher, nämlich im Jahre 1895, hatte Rehn eine Häufung von Blasenkrebs bei Arbeitern einer Anilinfabrik beschrieben. Bei der weiteren Untersuchung ergab sich, daß nicht das Anilin selbst, sondern das ß-Naphtylamin, das über den Urin ausgeschieden wird, als Karzinogen angesehen werden mußte.
Damit war der Hinweis gegeben, daß der Ort der Aufnahme einer chemischen Substanz und der Wirkungsort der karzinogenen Verbindung nicht identisch sein müssen.

Als dritte chemisch genau definierte Gruppe neben den aromatischen Kohlenwasserstoffen (Ruß und Teer) und den aromatischen Aminen, wurde die Gruppe der Nitrosamine gefunden.
Anhand dieser zum Teil relativ einfach gebauten, aliphatischen n-Nitroso-Verbindungen zeigte sich im Experiment, daß unabhängig von der Applikatiosart, je nach Anordnung der Seitengruppen der Karzinogene, bevorzugt bestimmte Organkrebse auftraten.

Basierend auf diesen Erkenntnissen, entwickelten sich in der experimentellen Kanzerologie zwei Hauptforschungsrichtungen heraus.
Die eine Richtung verfolgte die Erforschung der Verstoffwechselung des Karzinogens, sowie die Untersuchung des primären Angriffpunktes an den Desoxy-Ribonucleinsäure (DNS)-Molekülen (Biochemismus). Die andere Richtung bemühte sich um den Nachweis von Frühveränderungen und die Erfassung von Stadien während der Karzinogenese (=KG) (Morphologie). Dabei ergab sich, daß eine scharfe Trennung dieser beiden Forschungsrichtungen weder sinnvoll, noch immer möglich war.

So untersuchten Miller J.A. und Miller E.C. (1969) den Stoffwechsel, sowie das Verhalten von Karzinogenen (=KG) im Organismus, um Aufschluß über mögliche metabolische Veränderungen und Wirkungen während der Karzinogenese zu erhalten. Ebenfalls auf molekularbiologischer Ebene bemühte sich Neumann u.a. (1970) um die Klärung der Frage, wie das inaktive Karzinogen in die aktive Form umgewandelt wird, und wie die Bindungsverhältnisse an die genetische Substanz sind. Untersuchungen dieser Art waren notwendig geworden, nachdem sich in den zurückliegenden Jahren, bei rein patho-histologischer Betrachtungsweise, die maligne Entartung in der Regel gleichsam als "Drama in einem Akt" dargestellt hatte.

Zunehmend fanden nun auch autoradiographische und enzymhistochemische Methoden Anwendung, mit deren Hilfe das Wachstumsverhalten und Zellstoffwechselveränderungen während der Karzinogenese fassbar wurden.
Mit Hilfe dieser Methoden wurden endlich im Rahmen umfangreicher Untersuchungen an Geweben mit unterschiedlichen Regenerationsmechanismen stets frühzeitig fassbare Enzymdefekte gefunden.
So zeigten enzymhistochemische Untersuchungen an der Rattenleber nach Gaben von Diaethylnitrosamin durch Schauer und Kunze (1968), daß lange Zeit vor dem Auftreten von Tumoren, Enzymsausfallsherde der Nukleosid-5-triphosphatasen mit Glykogenspeicherung auftraten. Daneben fand sich eine Vermehrung der Desoxy- und Ribonukleinsäure (RNS)-Synthese.

Auch die Applikation von N-Nitrosomorpholin (Bannasch u. Müller 1964) führte zu entsprechenden Enzymausfallsherden. Gleiches beobachtete wiederum Bannasch (1971) während der Entstehung epithelialer Nierentumoren bei mit Nitrosomorpholin behandelten Ratten.
Auch nach der Gabe von Dibutylnitrosamin und Butylbutanol -so berichteten Kunze und Schauer (1971)- fand man in scharf abgegrenzten Urothelabschnitten der Ratte einen histochemisch vollständigen Aktivitätsverlust der Alkalischen Phosphatase (=AP), sowie eine starke Aktivitätsminderung der NAD•H-Diaphorase.
Diese und ähnliche Befunde auch anderer Autoren (u.a. Matsumura 1966 an der Gl. submandibularis und sublinqualis / Vakkter und Kool 1967 an praecanzerösen Herden der Kaninchenhaut) wiesen darauf hin, daß bereits lange vor dem Auftreten von patho-histologisch fassbaren Karzinomen, Veränderungen in der Zelle eintreten, die irreversibel sind.
Auf Grund all dieser Beobachtungen ergab sich die Möglichkeit, anhand der während der Karzinogenese kontinuierlich sich ändernder Zellenzymmuster einen stadienhaften Verlauf der Karzinogenese zu erfassen.
Dies gelang Herrmann (1974) bei der Entstehung von Tumoren an der Zymbaldrüse der Ratte, hervorgerufen durch das trans-4-Dimethylaminostilben (=t-4-DAS).
Neben enzymhistochemischen und autoradiographischen Methoden kamen deskriptiv-statistische Verfahren zur Anwendung, so daß Aussagen gemacht werden konnten, sowohl über den zeitlichen Ablauf der Karzinogenese als auch über das Wachstumsverhalten der betroffenen Zellen.
Ziel der vorliegenden Arbeit war es, basierend auf dem von Herrmann vorgestellten Modell, herauszufinden, ob und wenn ja, zu welchem Zeitpunkt der Karzinogenese eine Reduktion bzw. ein Sistieren der organspezifischen Funktion der Gehörgangsdrüse der Ratte eintritt.
Weitere Untersuchungen galten der Klärung der Frage, inwieweit die durch das Karzinogen t-4-DAS induzierten Tumoren der Ratte, zellspezifische (Rest-) Funktionen aufweisen, die Rückschlüsse auf das den Tumoren zugrundeliegende Muttergewebe zulassen.

2. Material und Methode

2.1. Das Karzinogen - Dimethylaminostilben

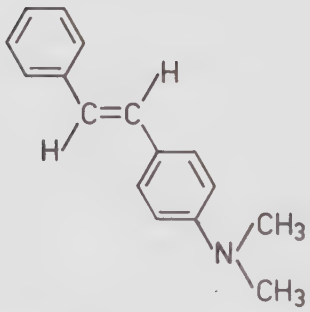
Das Dimethylaminostilben gehört seiner chemischen Struktur nach zu den nicht kondensierten aromatischen Aminen.
Wie Baldwin u.a. (1967), Schmähl und Thomas (1965) berichten, erzeugt das Karzinogen bei Ratten beiderlei Geschlechts in einem hohen Prozentsatz Geschwulste, insbesondere an der Gehörgangsdrüse (Zymbaldrüse).
Je nach Versuchsanordnung, applizierter Gesamtdosis und Fütterungszeit werden Tumorausbeuten zwischen 75% und 100% beschrieben (Schmähl 1965). Auch Neumann u.a. (1970) und Herrmann (1974) erzielten bei ihren Untersuchungen eine nahezu hundertprozentige Tumormanifestation. Überraschender Weise erweist sich jedoch lediglich die Trans-Form des Dimethylaminostilben zur Tumorinduktion befähigt, während das Cis-Isomer über keinerlei karzinogene Potenz verfügt (Neumann 1970).
Trotz umfangreicher Untersuchungen der Verstoffwechselung des t-4-Dimethylaminostilben's muß die Frage nach der organspezifischen Wirkung auf die Zymbaldrüse offen bleiben.
So fanden Rijosk und Neumann (1971), daß mit Tritium markiertes t-4-Dimethylaminostilben weder über die Gehörgangsdrüse ausgeschieden, noch dort retiniert wird.
Als einzigen Hinweis auf die Organotropie dieser Substanz ermittelten diese Autoren, daß t-4-Dimethylaminostilben bei oraler Verabreichung in den ersten Stunden vermehrt im Fettgewebe und der Gehörgangsdrüse angereichert wird, eine Tatsache, die aber mit den lipophilen Eigenschaften des Karzinogens erklärt werden kann.

Um die Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Karzinogene aus der Gruppe der aromatischen Amine, haben sich neben Miller J.A. und Miller E.C. (1969), besonders Metzler und Neumann bemüht (1971).

Die Aktivierung des t-4-Dimethylaminostilben zum ultimalen Karzinogen erfolgt in der Leber, wobei der erste Schritt als N-Hydroxylierung der Acetylaminogruppe (N-Hydroxy-acetylaminostilben) abläuft. Dieser Reaktion folgt eine Veresterung der hydroxylierten Acetylamino-Gruppe.

Die daraus resultierenden Ester des N-Hydroxy-acetylamino-stilbens stellen als stark elektrophile Verbindungen die eigentlich karzinogen wirksamen Substanzen dar. Sie sind in der Lage mit nukleophilen Substanzen wie Ribonucleasen und Desoxyribonucleasen zu reagieren und Mutagenität sowie Tumorinduktion auszulösen.

Das von Herrmann (1974) für seine Untersuchungen verwendete t-4-Dimethylaminostilben wies bei der spektrophotometrischen Reinheitsprüfung (Absorptionsmaximum bei 347 hm und 237 hm) eine nahezu 100%-ige Reinheit auf.



trans-4-Dimethylaminostilben

Abb. 1 Strukturformel des t-4-Dimethylaminostilbens

2.2. Das Tiermaterial

Die vorliegende Untersuchung wurde an 45 Wistar - Ratten durchgeführt. Um geschlechtsspezifische und zyklische hormonelle Einflüsse auszuschließen, wie sie u.a. Ebling (1963), Bates (1968) und Cutts J.H. (1964) beschrieben, wurden nur männliche Ratten verwendet. Bei Experimenten an weiblichen Ratten hatte sich nämlich gezeigt, daß der Hormonwirkung, neben dem proliferationsfördernden, kokarzinogenen Effekt, auch eine Bedeutung bei der Lokalisation der Primärwirkung eines exogenen Karzinogens zukommt.
So vermochte beispielsweise das Karzinogen 1,2 - Dibenzanthrazen bei einmaliger Zufuhr zum Zeitpunkt des ersten Zyklus, die spätere Entwicklung eines Mammakarzinoms zu bewirken; vor oder nach diesem Zeitpunkt verabreichte gleiche Dosen hatten nicht den entsprechenden Effekt.

Gehalten wurden die Tiere in vollklimatisierten Ställen, ihr Durchschnittsgewicht bei Versuchsbeginn betrug 200 Gramm.

Das Karzinogen t-4-Dimethylaminostilben wurde in einer Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht, in Brot eingebacken, über einen Zeitraum von 170 Tagen verfüttert (Standarddiät nach Druckrey u. Mitarb. 1962).
Danach erhielten die Tiere bis zu ihrer Tötung Altromin-Standardkost, sowie Wasser ad libidum.

Die Tötung der Ratten erfolgte zwischen dem 120. und 510. Tag nach Kanzerisierungsbeginn.

Entnommen wurde die Zymbaldrüse mitsamt dem knorpeligen Gehörgang durch einen retroauriculären Schnitt und zur weiteren histologischen Aufarbeitung mit Kohlensäureschnee tiefgefroren.

2.3. Die histologische und histochemische Methodik

2.3.1. Anfertigung der Serienschnitte

Nach der Tötung der Tiere und Entnahme der Zymbaldrüse, erfolgte auf dem Kryostaten die Herstellung von Serienschnitten. Dabei wurde die Schnittrichtung senkrecht zur Achse des Gehörgangs gewählt.

Von jedem Block wurden 99 Serienschnitte in neun Stufen hergestellt. Eine Stufe bestand aus dem Schnitt für die Übersichtsfärbung, sieben Schnitte für die histochemischen Enzymreaktionen, sowie einem Schnitt für die kombinierte enzymhistochemische und autoradiographische Methode nach Eder (1964). Die Schnittdicke betrug 4 µ.

2.3.2. Durchführung der enzymhistochemischen und histologischen Färbungen

Die enzymhistochemischen Färbungen wurden an den unfixierten Ktyostatschnitten durchgeführt. Die Tabelle 1 zeigt die durchgeführten Enzymnachweise und die dabei angewandten Methoden.

ENZYME	METHODE
Oxidoreduktasen	
Cytochromoxidase	Nachlas u. Mitarb. 1958
Glucose-6-phosphatdehydrogenase	Rudolph u. Klein 1964
Lactatdehydrogenase	Grycki u. Rzeszowska 1967
Succinatdehydrogenase	Rosa u. Tsou 1961
NAD·H-Diaphorase	Scarpelli, Hess u. Pearse 1958
Hydrolasen	
Alkalische Phosphatase	Stutte 1967
Saure Phosphatase	Gössner 1958
Adenosintriphosphatase	Wachstein u. Meisel 1957
5-Bromindoxylacetatesterase	Holt u. Withers 1952
a-Naphtylacetatesterase	Seligmann u. Mitarb. 1949

Tab. 1 Angaben zur Literatur der verwendeten enzymhistochemischen Nachweise

Zur Beurteilung der Morphologie wurden Haemalaun-Eosin-Färbungen hergestellt.
Zusätzlich wurden Glykogenbestimmungen durchgeführt, da u.a. Bannasch und Z.Hansen (1971) über Verschiebungen im Kohlenhydratstoffwechsel berichteten, wonach Mukopolysaccharid- und Glykogenanreicherungen als erste praeneoplastische Veränderungen der Zelle aufgetreten sind.
In den von Ihnen untersuchten Geweben beobachteten sie in keinem Fall eine Glykogenspeicherung bei unbehandelten Tieren.

Von besonderer Bedeutung für die vorliegende Arbeit waren die Sudan-III-Färbungen nach der Methode von Daddi.
Da es sich bei der Zymbaldrüse um eine talgproduzierende Drüse handelt, konnten mit Hilfe dieser Färbung Veränderungen des Zellfunktionsstoffwechsels angezeigt werden.

2.3.3. Die Sudan-III-Färbung

Mit Hilfe eines Farbstoffes, der in der Lage ist, Fette und Fettstoffe selektiv anzufärben, ist es möglich, Einblick zu nehmen in den Zellfunktionsstoffwechsel von fettproduzierenden Geweben.

Wie Untersuchungen von Wheatley (1956), Wheatley und James (1957), sowie Montagna und Mitarb. (1963) ergaben, handelt es sich beim Talg um eine Mischung unterschiedlichster Fette und Fettsubstanzen. So fanden die Autoren insbesondere Phospholipide, ungesättigte Glyceride und eine Mischung von Cholesterol-Estern. Vergleichende Untersuchungen der Talgzusammensetzung, von an der Körperoberfläche von Nagetieren gesammeltem Talg, ergaben eine Verteilung von ca. 50% gebundenen Fettsäuren und ca. 40% nicht veresterbaren Stoffen. Im einzelnen waren dies Wachsalkohole, Cholesterol sowie Lathosterol. Daneben wurden geringe Mengen von freien Fettsäuren, Paraffine, verschiedene andere Sterole und Hydrocarbone angetroffen.

Schließlich fanden sich noch nukleäre und cytoplasmatische Überreste zugrundegegangener Zellen, was jedoch bei Zellproduktion mit holokrinem Sekretionsmuster nicht überraschte (Wheatly u. James 1957).

Der zur Sudan-III-Fettfärbung verwendete Farbstoff ist nicht wasserlöslich, sondern vermag sich nur in Alkohol oder noch besser in Fettsubstanzen selbst zu lösen.
Der Prozess der Fettfärbung geht also so vor sich, daß die noch nicht gänzlich gelöste Farbe erst in den fettigen Substanzen der Zelle bzw. des Gewebes aufgelöst wird.
Daraus resultiert eine orange-rote Darstellung der Fettsubstanzen in Zellen und Geweben. Die mit Haemalaun gefärbten Zellkerne treten blau hervor.

Da Sudan-III keine spezifische Affinität (Burck H.C. 1973) zu bestimmten Fetten aufweist, kann mit ihrer Hilfe nur eine quantitative Aussage über die Funktion der Talgzelle gemacht werden, nicht jedoch über die Qualität der produzierten Fettsubstanzen.

2.4. Die Einteilung der Stadien anhand histologischer und enzymhistochemischer Parameter

Die Einteilung der praeneoplastischen Veränderungen in fünf definierte Stadien wurde nach der von Herrmann (1974) vorgestellten Methode durchgeführt.
Grundlage für diese Einteilung waren enzymhistochemische und morphologische Veränderungen während des stadienhaften Verlaufs der Karzinogenese.

Bei der Auswertung der Präparate wurde zunächst anhand der Enzymfärbungen die Zuordnung der praeneoplastisch veränderten Herde zu einem bestimmten Stadium getroffen. Mit Hilfe der HE-Übersichtsfärbung war es nun möglich, jeder enzymhistochemischen Konstellation (=Stadium) eine entsprechende Morphologie zuzuordnen, um schließlich durch Auswertung der Sudan-III-Färbungen, Aussagen machen zu können über den Funktionszustand der praeneoplastischen und neoplastischen Herde.

2.5. Photographische Dokumentation

Die photographische Dokumentation erfolgte mit dem Photomikroskop Orthoplan mit Photoaufsatz Orthomat der Fa. Leitz - Wetzlar.

Als Filmmaterial diente der Schwarz-Weissfilm Agfapan 25 Professional.

3. Ergebnisse

3.1. Die Gehörgangsdrüse (Zymbaldrüse) der Ratte

Bei der Zymbaldrüse der Ratte handelt es sich um ein gut abgrenzbares, homogenes Organ, das an der ventralen Wand des äußeren Gehörgangs liegt, etwa in Höhe des Übergangs des knorpeligen in den knöchernen Anteil.

Der Längsdurchmesser der Drüse beträgt ca. 2 - 3 mm, die Breite 1 - 1,5 mm, und die Höhe ca. 1,2 mm.
Ihre Farbe ist weißlich - gelb.

Die Funktion entspricht der menschlichen Ceruminaldrüse.

Der Aufbau gleicht einer zusammengesetzten, tubuloalveolären Talgdrüse, die zumeist aus vier Lobuli mit jeweils ca. 30 - 40 Azini besteht. Jeder Lobulus verfügt über einen kleinen Ausführungsgang (Ductulus). Die Ductuli vereinigen sich zum Hauptausführungsgang (Ductus). Der Hauptausführungsgang ist wie der Gehörgang von einem zweischichtigen Plattenepithel ausgekleidet.
Als Talgdrüse mit holokriner Extrusion, verfügt die Zymbaldrüse über ein mehrschichtiges Epithel.
Bei der Bildung des Talgs (Sebum) treten im Innern der Epithelien Fettröpfchen auf. Dabei wandern die Zellen ins Zentrum der Drüsenläppchen und den Ausführungsgängen zu, während die Kerne pyknotisch werden und das Zytoplasma zerfällt. Aus den äußeren, der Basalmembran anliegenden Zellen des mehrschichtigen Epithels (Basalzellen) entstehen durch Mitose neue Epithelien. Diese periphere Zellage entspricht dem Stratum germinativum des mehrschichtigen Plattenepithels, in das die mehrschichtige Talgdrüse am Ausführungsgang übergeht.
Als hochdifferenzierte Zelle verfügt die Talgzelle über ein für sie typisches Enzymmuster, das ihr die Talgproduktion als spezifische Zelleistung erst ermöglicht.
Die Integrität dieses Enzymsystems erweist sich für das reibungslose Funktionieren der Zelle als unabdingbar.

3.2. Der stadienhafte Verlauf bei der direkten Karzinogenese am Beispiel der Zymbaldrüse der Ratte

Umfangreiche Studien an Plattenepithelien (Oehlert 1969) und der Talgdrüse der Ratte (Herrmann 1974) zeigten, daß die Zellteilung überwiegend in den an der Basalmembran verankerten Zellen abzulaufen vermag.
Die bereits von der Basalmembran losgelösten Zellen teilen sich in der Regel nicht mehr. Sie besitzen aber die Fähigkeit sich in Plattenepithel- bzw. Talgzellen zu differenzieren.
Sie werden im Falle der Plattenepithelzelle als Hornscholle oder Stratum granulosum Zelle abgeschilfert oder wandern nach erfolgter aktiver Talgproduktion, wie bei der Talgzelle, in den Ausführungsgang.

Veränderungen der genetischen Substanz, wie sie durch ultimale Karzinogene verursacht werden (Übersicht J.A. Miller 1970), können nur in den zur DNS - Synthese und Mitose befähigten generativen Zellen wirksam werden. Diese genetisch fixierten, irreperablen Schäden werden bei der Mitose auf beide Tochterzellen weitergegeben, von denen sich meist eine von der Basalmembran löst und zur Ausdifferenzierung gelangt.
In diesem Zusammenhang erscheint die Frage nach Störungen der spezifischen Stoffwechselleistung und dem Zeitpunkt des Auftretens im Rahmen der direkten Karzinogenese von besonderem Interesse.

3.2.1. Das normale Enzymmuster der Zymbaldrüse

Wie enzymhistochemische Untersuchungen an chemisch induzierten praeneoplastischen und neoplastischen Veränderungen z.B. der Leber (Schauer und Kunze 1968) und der Harnblase (Schauer, Kunze und Krüsmann 1971) zeigten, verfügen die Normalzellen der unterschiedlichsten Gewebe über ein für sie typisches, zum normalen Funktionieren unverzichtbares Enzymmuster.

Die folgende Tabelle 2 zeigt das für die Zymbaldrüse der Ratte typische Normalenzymmuster.

Es sind dies vor allem Enzyme aus der Gruppe der Oxidoreduktasen und Hydrolasen.

Oxidoreduktasen	Hydrolasen
Cytochromoxidase	5-Bromindoxylacetatesterase
Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	a-Naphtylacetatesterase
Laktatdehydrogenase	
NAD•H - Diaphorase (NAD•H-Tetrazolium-Reduktase)	
Succinatdehydrogenase	

Tab. 2 Das normale Enzymmuster der Gehörgangsdrüse der Ratte

3.2.2. Morphologie und Histochemie der praeneoplastischen Veränderungen an der Gehörgangsdrüse der Ratte während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese: Stadium I

Morphologische Veränderungen gegenüber der normalen Histologie der Zymbaldrüse können in diesem frühen Stadium der direkten Karzinogenese nicht beobachtet werden.

Als erste fassbare Veränderung, werden einzelne Alkalische Phosphatase - positive Talgzellen, die den Basalzellen benachbart liegen, beobachtet.
Häufig handelt es sich dabei um ganze Talgzellgruppen oder um einen gesamten Talgdrüsenazinus.
Die beobachtete Enzymaktivität ist dabei vorwiegend im Bereich der Zellmembran nachweisbar.
Sonstige Abweichungen gegenüber dem normalen Enzymmuster der Zymbaldrüse können nicht beobachtet werden.

Insbesonders weist die Sudan-III-Färbung keinerlei Abweichungen gegenüber dem Färbeverhalten von normalen Talgzellen auf.

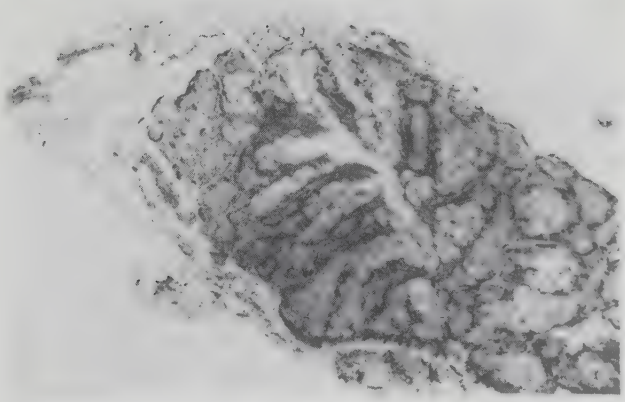


Abb. 2 Zymbaldrüse mit Zellen der Stadien 0 - I

a) Alkalische Phosphatase
(Vergrößerung ca. 60-fach)

b) Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 60-fach)

3.2.3. Stadium II

Auch dieses Stadium zeigt kaum morphologisch faßbare Änderungen, sieht man von gelegentlich auftretenden, geringgradigen Zellkernvergrößerungen mit angedeuteter Basophilie ab.

Enzymhistochemisch kommt es zu einer Aktivitätsminderung der Cytochromoxidase, der a-Naphtylacetatesterase und der Bromindoxylacetatesterase, sowie zu einem Ausfall der Glucose-6-phosphatdehydrogenase.
Daneben ist ein verstärkter Reaktionsniederschlag der Alkalischen Phosphatase zu beobachten, wobei es zunehmend auch zu einem Aktivitätsanstieg im Cytoplasma kommt.

In der Sudan-III-Färbung reagieren die Talgzellen noch immer mit einem deutlich positiven Fettniederschlag.
Dennoch weisen viele Zellen eine sichtbare Verringerung an fettigen Substanzen auf. Dies zeigt sich vor allem an der jetzt inhomogenen und ungleichmäßigen Verteilung des Farbstoffes in den Zellen.
In einzelnen Zellen findet sich nurmehr scholliges, orangerotes Material, so daß die betreffenden Zellen ein mehr vakuoliges Aussehen annehmen. Andere Zellen wiederum zeigen eine diffuse Anfärbung des Zellcytoplasmas mit blasigen Farbstoffaussparungen.
In diesem Stadium lassen sich beinahe alle Übergänge von normal kräftiger Anfärbung der Zellen bis hin zu blasig - vakuoligen Farbstoffresteinschlüssen beobachten.

Dies bedeutet, daß bereits in diesem frühen Stadium der direkten Karzinogenese eine sichtbare Beeinträchtigung der organspezifischen Zelleistung der Gehörgangsdrüse stattgefunden hat.

3.2.4. Stadium III

Im Stadium III treten nun erstmals deutliche, morphologisch faßbare Veränderungen auf.
Durch Entrundung und Faltung der äußeren Zellmembran zeigen sich die Zellformen verändert. Infolge Verringerung des cytoplasmatischen Mantels wirken die Zellkerne vergrößert und dichter aneinandergerückt. Zusätzlich scheint der Chromatingehalt der Kerne zugenommen zu haben. Erstmalig treten Schwankungen der Zellkerngröße auf. Trotzdem lassen sich die Zellen noch,

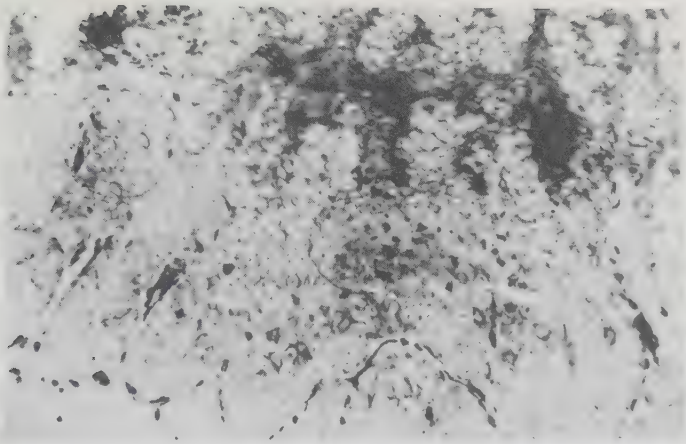
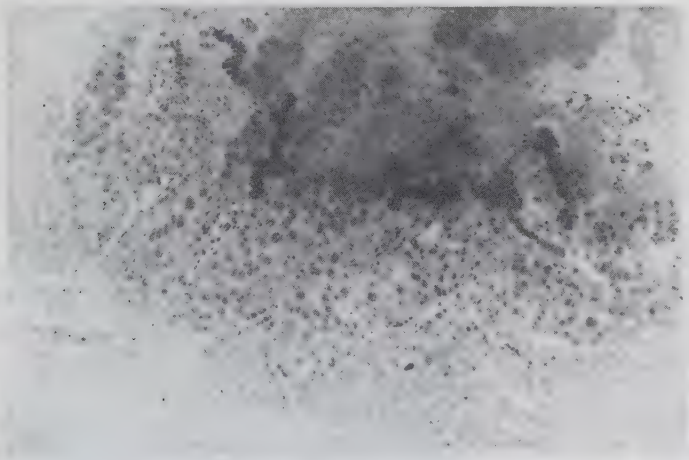


Abb. 3 Talgzellen der Stadien 0 - II

a) Alkalische Phosphatase
(Vergrößerung ca. 100-fach)



b) Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 100-fach)

wenn auch atypisch verändert, teilweise als Talgzellen erkennen. Diese atypischen Talgzellen erweisen sich den Basalzellen ähnlich.
Zusätzlich zu den im Stadium II beschriebenen Enzymdefekten, kommt es zu einer starken Aktivitätsminderung der Lactatdehydrogenase (=LDH) und der NAD·H-Diaphorase, die sogar teilweise so stark ausgeprägt sein kann, daß sie einem Enzymausfall gleichkommt.
Daneben lässt sich ein erneuter Anstieg der AP beobachten.

Aus den parallel zu den histochemischen Reaktionen durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen geht hervor, daß erstmals im Stadium III ein deutlicher Markierungsanstieg der Talgzellen, insbesondere der Suprabasalzellen zu verzeichnen ist.

Dieser Proliferationsanstieg bleibt für die Dauer des Stad. III (also 3 - 4 Tage) bestehen.
Dies ist überraschend, da die Zellen zu diesem Zeitpunkt noch nicht als potentielle Tumorzellen anzusprechen sind.

Schon in diesem Stadium kommt es in der Sudan-III-Färbung zum Ausfall der positiven Reaktion.
Nur gelegentlich finden sich in einzelnen Zellen noch winzige Sudan-positive-Eischlüsse.

Dies muß als Beweis dafür gewertet werden, daß bereits im Stadium III ein völliges Sistieren der organspezifischen Funktion der Zymbaldrüse eingetreten ist.
Somit haben die Talgzellen schon in diesem frühen Stadium der Karzinogenese ihre zellspezifische Fähigkeit zur Talgproduktion eingebüßt.

Das gemeinsame Auftreten von erstmalig faßbaren morphologischen Änderungen mit dem Sistieren der organspezifischen Funktion der Talgzelle, läßt den Schluß zu, daß die Morphologie der Zelle in nicht unerheblichen Ausmaß durch die Zellfunktion mitgeprägt wird.

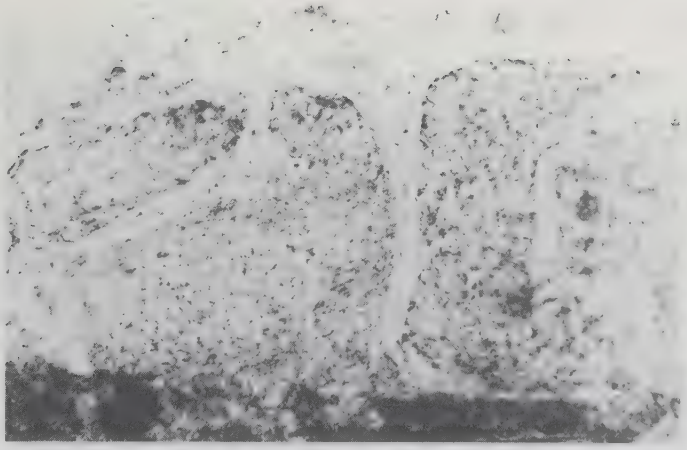
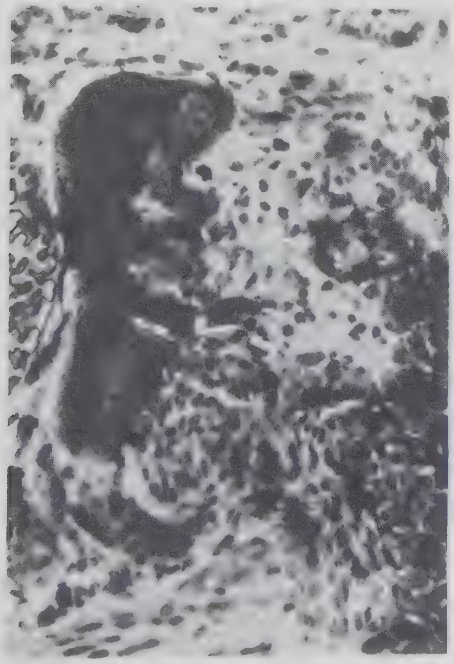
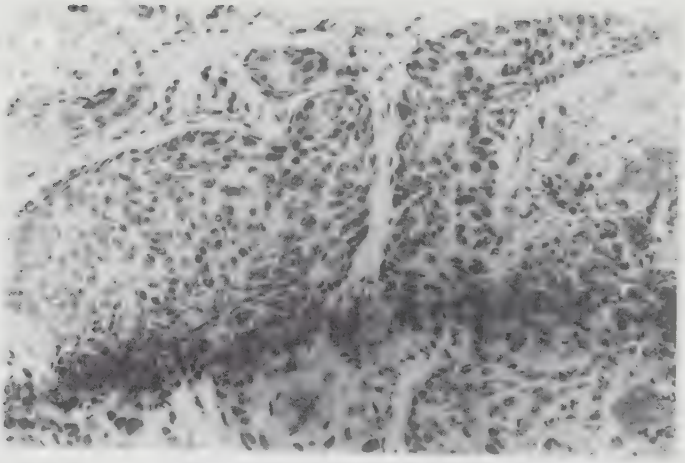


Abb. 3 Zellnester der Stadien III u. IV
a) NADH - Diaphorase
(Vergrößerung ca. 240-fach)



b) Stadium III
Alkalische Phosphatase
(Vergrößerung ca. 360-fach)



c) Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 240-fach)

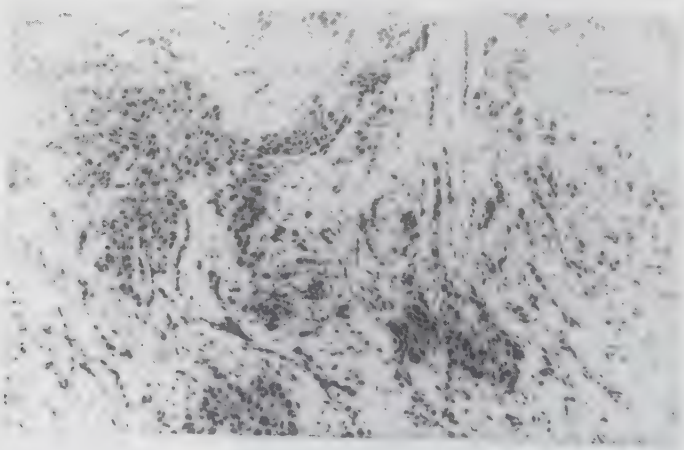


Abb. 4 Zellhaufen des Stadiums V bei bereits vollzogener neoplastischer Invasion
Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 100-fach)

3.2.5. Stadium IV

Im frühen Stadium IV scheinen die Zellen ihre bisher noch deutlich erkennbaren Zellmembranen zu verlieren, das Zytoplasma erscheint geschrumpft, so daß Haufen von mehr oder weniger dicht aneinander gelagerten, kleinen, chromatinreichen Zellkernen entstehen.
Die Zellen selbst lassen nur noch selten Ähnlichkeit mit Talgzellen erkennen, sie erinnern zunehmend an Basalzellen oder Plattenepithelzellen.

Enzymhistochemisch fällt besonders der starke Abfall bzw. der Ausfall der AP auf, die bisher einen stetigen Aktivitätszuwachs zu verzeichnen hatte.
Gleichzeitig kommt es zum Verschwinden der Glykogenspeicherungsfähigkeit, die erstmalig im späten Stadium III bzw. frühen Stadium IV angetroffen wurde, was auf eine Wechselbeziehung zwischen der AP und dem Glykogenstoffwechsel hindeuten könnte.
Daneben lässt sich ein Ansteigen der Enzymaktivitäten der Adenosintriphosphatase (=ATP-ase) sowie der Succinatdehydrogenase (=SDH) feststellen.

Auch in diesem Stadium unterscheidet sich der ^{3}H-Thymidin-Markierungsindex (12,5%) gegenüber dem Normalgewebe (5,8 %). Dies deutet auf ein gesteigertes Wachstumsverhalten der Zellen des Stadium IV hin.
Die für das neoplastische Wachstum typische Höhe (16,6 % - 23,3 %) wird jedoch nie erreicht.

Die Sudan-III-Farbreaktion ist vollständig ausgefallen.
Eine Produktion von Talg oder einzelnen fettigen Substanzen findet nicht mehr statt.

3.2.6. Stadium V

In diesem Stadium haben die Zellen jede Ähnlichkeit mit den Zellen des Muttergewebes verloren.
Sie stellen sich als Plattenepithelzellen dar, die unterschiedlich stark atypisch sind.

Charakterisiert wird die Enzymhistochemie dieses Stadiums durch den Ausfall der im Stadium IV beobachteten hohen Enzymaktivität der ATP-ase, sowie der AP.

Die SDH - Aktivität bleibt häufig zunächst noch erhalten. Ansonsten zeigen sich keine Änderungen im Verhalten der Enzyme gegenüber dem Stadium IV.

Gleiches gilt für die autoradiographischen Befunde und das Färbeverhalten mit Sudan-III.

Das Stadium V repräsentiert das letzte histochemisch und morphologisch faßbare praeneoplastische Stadium.

3.3. Die Neoplasietypen der Zymbaldrüse

Bei der Beurteilung der durch das t-4-DAS an der Zymbaldrüse hervorgerufenen Tumoren, ist eine Betrachtung der Befunde, rein aus der Sicht der direkten Karzinogenese, nicht mehr möglich.
So zeigt das Karzinogen neben der direkten karzinogenen Wirkung auch in umschriebenen Bezirken einen hyperplasiogenen Effekt auf die Talgzellen.
Dieser hyperplasiogene Effekt erweist sich ebenso irreversibel wie die Vorgänge bei der direkten Karzinogenese.
Dies bedeutet, daß es wie bei der direkten KG zu einer genetisch fixierten Alteration an den generativen Zellen der Talgdrüse gekommen sein muß.
Hyperplastisches Wachstum wird stets nur im Zusammenhang mit einer bereits in Gang befindlichen Zelltransformation beobachtet.
Dabei zeigen sich besondere Wachstumsformen, die zum Verständnis der entstehenden Neoplasietypen von Bedeutung sind.

So wird das Phänomen der intraazinär wachsenden, papillären Hyperplasie beobachtet. Dabei kommt es zu einem prozentualen Anstieg der Basalzellmitosen, deren Teilungsachse parallel zur Basalmembran steht. Dadurch entsteht nach Oehlert (1969) eine Vermehrung der basalen Zellzahl, was wiederum zu einer Vergrößerung der Auflagefläche des Epithels auf dem subepithelialen Bindegewebe führt. Dies ist nur bis zu einem bestimmten Umfang möglich, so daß es danach zu einer papillomatösen Auffaltung der Basalmembran mit Vergrößerung der Auflagefläche für Basalzellen kommt.

All dies führt zur Bildung von Faltenpapillomen mit einer typischen Septierung der Hyperplasieherde durch Auffaltung der Basalmembran.

Eine weitere Besonderheit der Hyperplasio-Karzinogenese führt zur Entstehung von Zysten. Diese finden hauptsächlich im Auftreten von Talgzellnekrosen ihre Ursache. Dabei ist es zur metaplastischen Umwandlung basaler Zellschichten des StadiumsIV gekommen. Eine Differenzierung der Talgzellen findet nicht mehr statt. Durch Ausbildung einer feinen Hornlamelle auf den Stadium-IV-Zellen, kommt es wahrscheinlich zu einer Ernährungsstörung der übrigen, durch Diffusion von der Basalmembran aus ernährten Talgzellen.
Die betroffenen Talgzellen werden nekrotisch.
Durch Demarkierung der Nekrosen und Abstoßung in den Ausführungsgang bilden sich Zysten.
Die so entstandenen Zysten müssen den Stadien IV oder V zugerechnet werden.
In diesem Zusammenhang erscheint es wichtig darauf hinzuweisen, daß in diesen beiden Stadien das invasive Wachstum jederzeit beginnen kann.
Die Zystengröße unterliegt starken Schwankungen.
Am häufigsten wird die einfache Form der glattwandigen Zyste mit einem ein- bis zweischichtigen, meist verhornenden Plattenepithel angetroffen.
Regelmäßig kommt es nach unterschiedlichen Latenzzeiten an irgendeiner Stelle der Zystenwand bzw. ihrer papillären, metaplastischen Auffaltung zu einer vermehrten Proliferation. (Herrmann 1974)

3.3.1. Das papillär wachsende, teilweise verhornende Talgzell - Basalzellkarzinom (Mixed - type Ca)

Das Mixed - type Karzinom entwickelt sich allen Beobachtungen zu Folge aus der intraazinär wachsenden, papillären Hyperplasie oder aus Zystenwänden, an denen noch Zellnester der Hyperplasiestadien O - III zu finden sind. Dabei kommt es je nach Sitz der praeneoplastischen Hyperplasiestadien zu intra- oder extrazystärem Wachstum der entstehenden Tumore.

So führt die Entwicklung des Karzinoms aus der Hyperplasie einer papillären Basalzellproliferation, die in die Zyste hineinragt, zu einem intrazystär wachsendem Karzinom. Daraus resultiert nicht selten eine derartige Aussackung der Zystenwand, daß der Durchmesser der Zyste den des Gehörganglumens übertrifft.

Extrazystäres und / oder intrazystäres Wachstum wird häufig dann beobachtet, wenn der Tumor aus einer hyperplastischen Zystenwand entstanden ist.

Als besonders charakteristisch erweist sich beim Aufbau papillärer Tumorzapfen die verbreiterte enzymnegative basale Zellschicht. Dort werden ^{3}H-Thymidin-markierte Zellen gefunden, deren Tochterzellen sich zumindest teilweise zu Talgzellen mit dem Enzymmuster der Stadien I - III ausdifferenzieren können.
Daneben treten Zellen auf, die keine ^{3}H-Thymidin-Markierung aufweisen. Diese Zellen erweisen sich in der Sudan-III-Färbung als nicht darstellbar. Ihre Zellfunktion im Sinne einer Talgproduktion erscheint erloschen. Stattdessen kann die Produktion von atypischen "Talgsubstanzen" beobachtet werden, die keine fettfärberischen Eigenschaften mehr besitzen. Diese Substanzen unterscheiden sich histologisch nicht von dem für Hornsubstanzen typischen Bild.
Trotzdem finden sich innerhalb dieser atypischen Talgzellprodukte nicht selten Sudan-III-positive Einschlüsse, so daß eine gewisse Restfunktion dieser neoplastisch veränderten Talgzellen möglich erscheint.

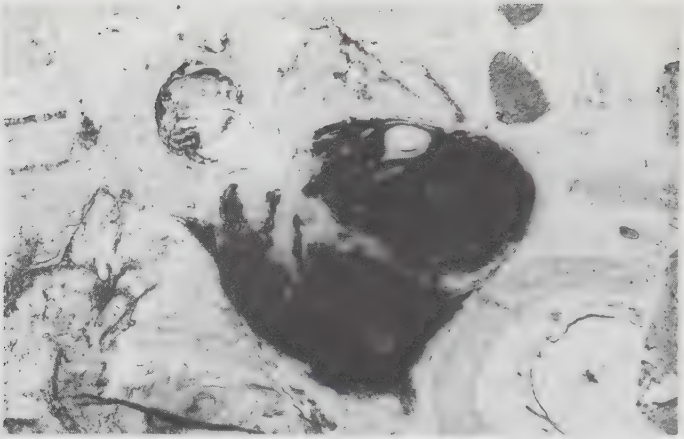
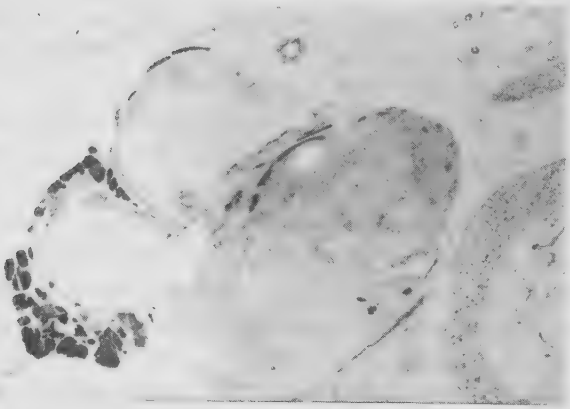


Abb. 5 Mixed - type - Karzinom
a) Alkalische Phosphatase
(Vergrößerung ca. 25-fach)



b) LDH
(Vergrößerung ca. 25-fach)

Enzymhistochemisch ist diese Tumorform charakterisiert durch das Persistieren einer positiven Reaktion der AP sowie der LDH, seltener auch der ATP-ase und Sauren Phosphatase (=SP).

Angetroffen wird dieser Tumor besonders in dem Zeitraum zwischen dem 240. und 360. Tag nach Kanzerisierungsbeginn, also einem relativ frühen Zeitpunkt.

3.3.2. Das (verhornende) Plattenepithel-Karzinom

Das (verhornende) Plattenepithelkarzinom ist der am weitaus häufigsten anzutreffende Neoplasietyp unter den durch das t-4-DAS hervorgerufenen Tumoren der Ratte.

Bei der Entstehung der Plattenepithelkarzinome fällt auf, daß sie sich überwiegend aus dem ein- bis zweischichtigen Zystenwandepithel über eine papilläre Hyperplasie entwickeln. Ausgangspunkt sind stets Zellen der Stadien IV und V.
Die infiltrierten Epithelstränge enthalten an der Außenseite, an das Tumorstroma angrenzend, basalzellähnliche Geschwulstzellen, die zum Zentrum der Epithelzapfen hinwachsen und auch Hornbildung entwickeln können.
Da die von den Tumorzellen gebildeten Hornanteile im Zentrum der Epithelzapfen nicht wie an der Oberfläche abgeschilfert werden können, bilden sie Hornkugeln.

Mit Beginn des invasiven Wachstum kommt es zum Ausfall der ATP-ase und SDH-Aktivität, die teilweise noch bei bereits voll ausdifferenzierten Plattenepithelzellen beobachtet werden konnten.
Eine Aktivität der AP sowie der LDH kann, wie im Falle des Mixed-type-Karzinoms nicht mehr beobachtet werden.
Ebenso ist es in nahezu allen Fällen zum völligen Ausfall der Sudan-III-Färbung gekommen und somit zum Erliegen der Talgproduktion.
Nur selten können einzelne Karzinomzellen mit Sudan-III-positiven Einschlüssen beobachtet werden, die auf eine Restfunktion der betreffenden Karzinomzellen hindeuten.

Diese Zellen allein vermögen allerdings nicht, die teilweise massiv anzutreffenden Sudan-III-positiven Einschlüsse von fettigen Substanzen im Innern von Hornlamellen zu erklären.
Neben den verhornenden Plattenepithel-Karzinomen werden auch wenig bis nicht verhornende Plattenepitheltumoren gefunden.

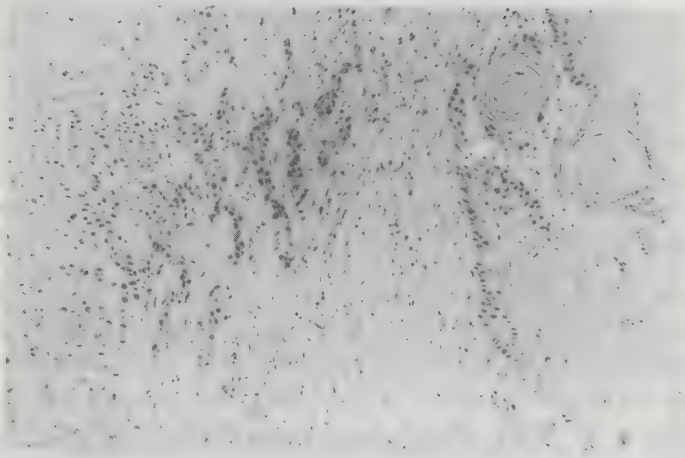


Abb. 6 Verhornendes Plattenepithel-Karzinom
Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 100-fach)

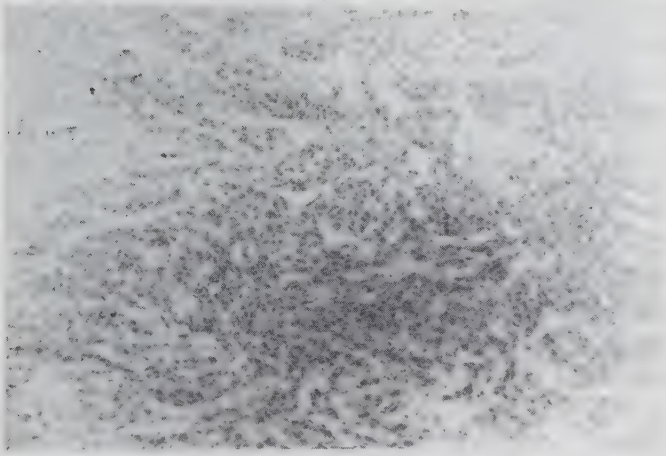


Abb. 7 Kleinzelliges Karzinom
Sudan III-Färbung
(Vergrößerung ca. 125-fach)

3.3.3. Das kleinzellige (Basalzell-) Karzinom

Dieser Neoplasietyp entwickelt sich den wenigen Beobachtungen dieser Arbeit zufolge aus Zellen, die dem frühen Stadium IV der direkten KG angehören.
Das Übersichtsbild ist charakterisiert durch dicht gelagerte, kleine und chromatinreiche Kerne, deren Zytoplasmata häufig von nur schwach erkennbaren Zellmembranen umgeben werden. Es finden sich nahezu alle Grade von Atypie.

Enzymhistochemisch zeichnen sich die Zellen durch eine hohe ATP-ase Aktivität aus. Ebenso kann gelegentlich eine Glykogenose in den Zellen dieser Tumoren, entsprechend einem Übergangsstadium III - IV, beobachtet werden.

Neben der Entstehung aus Zellen des frühen Stadium IV der direkten KG, findet man die kleinzelligen Karzinome auch in Zystenwänden, die im Rahmen der indirekten KG über eine papilläre Hyperplasie entstanden sind.

Die Sudan-III-Färbung als Indikator für den organspezifischen Zellstoffwechsel erweist sich hier in allen Fällen als negativ. Somit findet in Tumorzellen dieses Typs keine Synthese von fettigen Substanzen statt, die an die Herkunft der neoplastisch veränderten Zellen erinnern könnte.

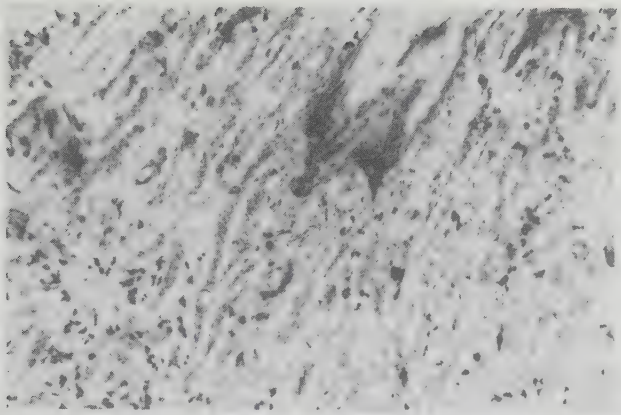
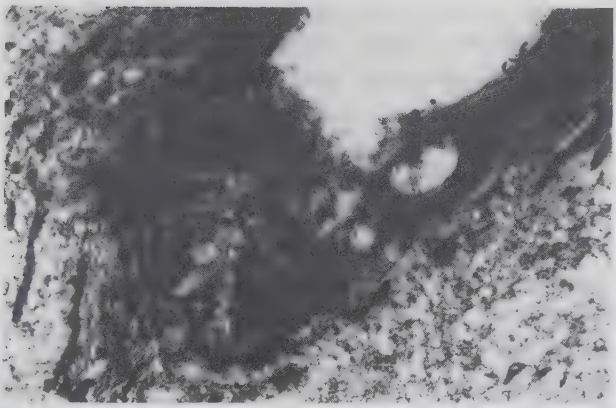


Abb. 8 Undifferenziertes Karzinom
a) Alkalische Phosphatase
(Vergrößerung ca. 100-fach)



b) ATP-ase
(Vergrößerung ca. 100-fach)

3.3.4. Das undifferenzierte Karzinom

Diese Form der Neoplasie wird erst relativ spät nach Beginn der Kanzerisierung gefunden.

Histologisch weisen sich diese meist solide wachsenden Tumore durch die hyperchromatischen Zellkerne aus, die nur von einem schmalen Cytoplasmasaum umgeben sind. Auch können die Tumorzellen gelegentlich atypischen Basalzellen bzw. Spinalzellen ähneln.
Insgesamt findet man eine ausgeprägte Zellpolymorphie.

Das enzymhistochemische Muster der Tumorzellen ist gekennzeichnet durch eine hohe Aktivität der SP, sowie eine gelegentlich auftretende Erhöhung der ATP-ase.

Aufgrund dieser Beobachtung erscheint die Entwicklung des undifferenzierten Karzinoms aus Zellen der Stadien IV und V zumindest möglich.

Die Sudan-III-Farbreaktion fällt in allen beobachteten Fällen negativ aus. Eine Produktion von Talg oder talgähnlichen Stoffen findet nicht statt. Damit ist der Rückschluß auf das dem Tumor zugrundeliegende Muttergewebe nicht möglich.

3.4. Die Verhornung

Bei der Produktion von Talg durch die normale Talgzelle lässt sich regelmäßig eine hohe Aktivität der SP im Bereich der äußeren Zellmembran nachweisen, die von Pliss (1973) als Hinweis auf die aktive Stoffwechselleistung der Talgzelle gedeutet wird.
Während des weiteren Verlaufs der Talgproduktion, kommt es in der mit Talg gefüllten Zelle (starke Sudan-III-Reaktion) zur Kernpyknose mit einer daran anschließenden Aufsprengung der Zellmembran und Entleerung des Talgs im Sinne des holokrinen Sekretionsmechanismus.

Bei der Beobachtung der talgzellwertigen Zellen --d.s. Zellen, die noch geringe Sudan-III-positive Partikel beinhalten bzw. über eine morphologische Ähnlichkeit mit Talgzellen verfügen -- fällt im HE-Schnitt die im Vergleich zur Normalzelle starke Eosinophilie und Verdickung der äußeren Zellmembranen auf.
Wie die Normalzellen, scheinen auch diese Zellen über den normalen Abwanderungsweg von der Basalzellschicht in Richtung Ductulus zu verfügen. Dabei kommt es jedoch im Gegensatz zur normalen Drüsenzelle nicht zur Aufsprengung der verdickten Zellmembranen, sondern unter Verschwinden des talgarmen bzw. talgfreien Zellinhalts zur Ausbildung eines eosinophilen Netzes, das inselartig zwischen den Karzinomzellen zum Liegen kommt.

Im weiteren Verlauf des Abwanderungsmechanismus, werden die Hornnetze mit den dazwischen liegenden Zellen, die z.T. noch über Restfunktionen der Fettsynthese verfügen, immer weiter in Richtung Tumorperipherie verdrängt. Dabei nekrotisieren die eingeschlossenen Zellen wahrscheinlich infolge der nunmehr gestörten Zellernährung.
Als Resultat dieser Vorgänge findet man besonders in der Tumorperipherie nicht selten massive Hornlamellenansammlungen, die auch Sudan-III-positive Einschlüsse aufweisen können.

Die Verdickung der äußeren Zellmembranen der talgzellwertigen Zellen des Mixed-type-Karzinoms sowie des Plattenepithelkarzinoms wird regelmäßig vor dem Absterben der Zellen beobachtet.
Somit muß der Vorgang der Verhornung bei den neoplastisch veränderten Zellen, ebenso wie die Produktion von Talg bei Normalzellen, als aktive Stoffwechselleistung betrachtet werden.

3.5. Statistische Aufschlüsselung der beobachteten praeneo- und neoplastischen Veränderungen

Insgesamt wurden 45 Tiere untersucht. Darunter befanden sich drei Tiere, die keinerlei histochemisch und histologisch nachweisbare praeneo- und neoplastische Veränderungen aufwiesen.
Die restlichen 42 Tiere zeigten jeweils neoplastische Vorstufen, manifeste Tumoren oder beides.
Demnach beträgt die in dieser Untersuchung mit t-4-DAS hervorgerufene Tumorausbeute 93,3 % .

Tabelle 3 veranschaulicht die Verteilung der vorgefundenen praeneoplastischen Veränderungen und der manifesten Tumore an der Gehörgangsdrüse der Ratte.
Berücksichtigt wurden nur die Vorstufen der direkten Karzinogenese, nicht die der Hyperplasiokarzinogenese sowie sämtliche Tumoren, auch wenn diese z.T. ihren Ursprung in Vorstufen der Hyperplasiokarzinogenese fanden.

Induzierte Veränderung	Anzahl der Herde
Plattenepithel - Karzinome	37
Mixed - type - Karzinome	10
Undifferenzierte - Karzinome	11
Kleinzellige - Karzinome	2
Vorstufen der direkten KG	156
n= 45 Tiere	n'=216 Herde

Tab. 3 Praeneoplastische Veränderungen und manifeste Tumore an der Zymbaldrüse der Ratte

Die Diskrepanz zwischen der Tiergesamtzahl n=45 und der Anzahl der vorgefundenen Herde n'= 216 in Tabelle 3 erklärt sich aus der Beobachtung, daß bei einzelnen Tieren neben Vorstufen auch Tumorherde bzw. die Kombination beider gefunden wurden.

Induzierte Veränderung	Sudan positiv	Sudan negativ	gesamt
Plattenepithel - Ca	5	32	37
Mixed-type - Ca	10	0	10
Kleinzelliges - Ca	0	2	2
Undifferenziertes- Ca	0	11	11
n=42 Tiere			n'=60 Herde

Tab. 4 Verteilung der vorgefundenen Tumore nach Sudan-III-Färbeeigenschaften

Die Verteilung der praeneo- und neoplastischen Veränderungen innerhalb der Tierpopulation zeigt Tabelle 5.

Art der Veränderung	Anzahl der Tiere
Vorstufen der direkten KG ohne Tumor	0
Vorstufen der direkten KG mit Tumoren	13
Vorstufen der direkten KG mit Vorstufen Hyperplasio-KG mit Tumoren	2
Tumoren der direkten KG ohne Vorstufen	15
Hyperplasio - KG	12
Tiere ohne nachweisbare pathologische Veränderung	3
	n= 45 Tiere

Tab. 5 Verteilung der praeneo- und neoplastischen Veränderungen innerhalb der Tierpopulation

Die Untersuchung der Tiere, deren Kanzerisierung in Form der direkten KG verlief, ergab eine gleichmäßige Verteilung der Tiere, die Neoplasien mit Vorstufen aufwiesen, und solcher, die nurmehr manifeste Tumoren zeigten. Reine Vorstufen konnten in keinem einzigen Fall gefunden werden.

Die Aufschlüsselung der praeneoplastischen Veränderungen nach dem Modus der direkten KG zusammen mit den Sudan-III-Färbeeigenschaften zeigt Tabelle 6.

Stadium der Praeneoplasie	Sudan positiv	Sudan negativ
Stadium I	42	-
Stadium II	17	-
Stadium III	-	25
Stadium IV	-	49
Stadium V	-	23
n= 30 Tiere	n'= 156 Herde	

Tab. 6 Die Stadien der praeneoplastischen Herde der direkten KG nach Sudan-III-Färbeeigenschaften

Tab. 7 gibt Aufschluß über die enzymhistochemischen Eigenschaften der unterschiedlichen Neoplasieformen.

Enzym	AP	SP	ATP-ase	LDH	SDH	Glykogen
Mixed-type Ca.	++	-	+	+	(+)	-
Plattenepi.Ca.	-	-/+	+/-	-	+/-	-
Kleinzelli.Ca.	-	-/+	+ +	(+)	-	(+)
Undifferen.Ca.	-	+	+ +	-	-	-

Legende:
+ positiv ++ stark positiv
(+) gelegentlich positiv
- negativ
+/- im frühen Tumorstadium zumeist positiv, später negativ
-/+ im frühen Tumorstadium zumeist negativ, mit Beginn des invasiven Wachstums positiv

Tab. 7 Enzymmuster der neoplastischen Veränderungen

4. Diskussion

4.1. Theorien der Krebsentstehung

In kaum einem Fachgebiet ist die Beeinflussung der zeitgenössischen Forschung durch jeweils hervortretende technische Fortschritte so auffällig wie bei der Krebsforschung.

Als direkte Folge dieser Entwicklungen sind die einzelnen Krebstheorien zu verstehen, die nicht selten ihre Wurzel in Mißverständnissen haben.
Es existieren die "chemische Krebstheorie" sowie die "Strahlentheorie des Krebses", wobei verkannt wird, daß chemische oder physikalische Manipulation nur Instrumente der Karzinogenese darstellen. So können im Folgenden auch nur die Theorien berücksichtigt werden, die zwischen der Auslösung (Initiation) und dem Fortschreiten (Progression) des Krebses unterscheiden.

So fanden u.a. Ohno (1971) und German (1972), daß im Verlauf des Fortschreitens des Krebses eine starke zytogenetische Inbalance mit Chromosomenaberrationen und Chromosomenvermehrung auftritt. Auf dieser Beobachtung basiert die Chromosomentheorie der Krebsentstehung.
In diesem Zusammenhang muß gesagt werden, daß die Fragen, ob die chromosomalen Veränderungen für die Karzinogenese verantwortlich sind, oder lediglich Begleiterscheinungen der Krebsentstehung sind oder gar erst im Verlaufe der Tumorprogression auftreten, noch nicht geklärt sind.
Diese Möglichkeiten auseinanderzuhalten verbietet die augenblicklich verfügbare Methodik.

Die Beobachtung, daß sich im Verlauf der Progression einer Neoplasie ein sich ständig vereinfachendes Enzymmuster der Krebszellen einstellt, führte zu der Konvergenztheorie der Krebsentstehung.

Als Folge der Wandlung des Enzymmusters, sind sich die Krebszellen -wie auch diese Arbeit zeigt- schließlich enzymhistochemisch ähnlicher als die jeweiligen Krebszellen mit ihrem Muttergewebe. (Vgl. auch Tab. 2 u. 7)

Als weiterer Mechanismus der Krebsentstehung hat die Theorie von Warburg, die sogenannte Stoffwechseltheorie, Eingang in die Forschung gefunden.
Sie besagt, daß im Laufe der Karzinogenese die Zellatmung zugunsten der Glykolyse in der Zelle verloren geht, was letztendlich für die maligne Transformation verantwortlich sein soll.

Alle diese Theorien erweisen sich als rein deskriptiv und lassen die Entstehung der Tumorzelle aus der normalen Zelle beinahe gänzlich außer acht.

Für die Entstehung des Krebses lassen sich zwei Möglichkeiten denken:

I. Die Primärveränderungen finden in den Zellproteinen statt, und oder
II. der Krebs hat seinen Ursprung in Veränderungen der genetischen Substanz der Zelle.

Die Prämissen für beide Vorstellungen sind:

1.) Die verschiedensten Reize können zur Entstehung von Krebs führen.
2.) Krebs ist eine einheitliche Erkrankung.
3.) Krebsige Eigenschaften müssen von einer Zelle auf die andere weitervererbt werden.

Die Proteindeletionstheorie geht von der Beobachtung primärer Veränderungen im Zytoplasma - wie sie auch im Rahmen dieser Arbeit gemacht werden konnten - als Krankheitsursache des Krebses aus.
Dabei kommt es infolge der Einwirkung von Karzinogen, z.B. Dimethyl-benzanthrazen (DMBA) zum Ausfall spezifischer Zellenzyme.
Der Nachweis wurde in diesem Falle geführt mit Hilfe der Elektrophorese durch Auftrennung der Proteine, wobei eine Einteilung nach den dabei beobachteten Peaks erfolgte.
Bei dieser Gelegenheit fand man folgendes:

Karzinogene vermögen sich spezifisch an die soq. h_2-Proteine zu binden, so daß diese h_2-Proteine mit den zugeführten Karzinogenen mittels kovalenter Bindungen abgesättigt werden.

Mit der Bindung des Karzinogens an die h_2-Proteine geht die Elimination der spezifischen Proteine aus der Zelle einher; diese Proteine werden also deletiert.
Die h_2-Proteine selbst stellen wasserlösliche, basische Proteine dar, die mehrere wachstumshemmende Komponenten u.a. das Enzym Arginase enthalten sowie weiterhin Enzyme, die eine Glutathionkonjugation von Epoxiden bewerkstelligen.
Epoxide wiederum sind die reaktionsfreudigen Endstufen von Karzinogenen, ein Umstand, der auch im Zusammenhang mit dem Karzinogen t-4-DAS von Bedeutung ist.
Schließlich enthalten die h_2-Proteine Anteile, die identisch sind mit dem "Corticoid-Binder I" der Leber.
Diese Substanz, auch Ligandin genannt, hat offensichtlich die Aufgabe, wichtige intrazelluläre Vehikel- und Transportfunktionen zwischen Cytoplasma und Zellkern zu erfüllen.

Durch das Sistieren dieser Zelltransportsysteme kommt es zu bleibenden Zellstoffwechselstörungen.
Somit handelt es sich -- nach dieser Theorie -- beim ersten Schritt in Richtung der neoplastischen Transformation um einen selektiven Eingriff in die Regulatorproteine der Zellen.

Werden nun noch endogene Repressoren des Wachstums entfernt, so diese Theorie, beginnt das bekannte, für den Krebs typische, ungebremste Wachstum.

Ungeklärt bleibt die Frage nach dem Vererbungsmodus, da eine erworbene zytoplasmatische Eigenschaft (Verlust der h_2-Proteine) a priori nicht vererbbar ist.
Denkbar wäre, wie Beispiele aus der Bakteriengenetik zeigen, daß ohne Änderung des Genoms die Synthese eines Regulators (Repressors) auf Dauer eingestellt wird.
Voraussetzung dafür ist allerdings das Vorliegen eines doppelten Repressionskreises.
Der erste Schritt in Richtung Neoplasien wäre somit eine Veränderung im Repressionsmuster der Gene, also eine Umschaltung des Genprogramms.

Die Frage der Vererbung der Krebseigenschaften der Karzinomzellen kann durch die Mutationstheorie besser erklärt werden.

Man geht davon aus, daß es durch karzinogenen Reiz zu einer Veränderung der DNS kommt.
Gestützt wird diese Theorie durch Experimente, wonach Karzinogene an die DNS und RNS gebunden werden und damit die Transkription und Translation qualitativ und quantitativ verändern.
Auch Versuche mit Röntgen- und UV Strahlen haben gezeigt, daß es tatsächlich zu einer Veränderung der DNS, so z.B. zum Austausch der Base Guanin gegen Thymin kommen kann.

Unterstützung erfährt diese Theorie weiterhin durch Beobachtungen der durch onkogene Viren hervorgerufenen Neoplasien, bei denen der Einbau eines fremden Genoms in die zu transformierende Zelle nachgewiesen wurde.
Dies sind die Grundlagen der sog. Virustheorie.

Beweise für die Virustheorie lieferten verschiedene, zellfrei übertragbare Tiertumoren, wie z.B. das Rous-Sarkom sowie andere Hühnersarkome, Hühner- und Mäuseleukämien, die Shopetumoren des Kaninchens und Mammakarzinome der Maus.

Dennoch nimmt die Virustheorie der Karzinogenese eine Sonderstellung ein, da bisher aus naheliegenden Gründen für keinen menschlichen Tumor eine Virusinduktion gesichert werden konnte.

Außerdem besteht ein Widerspruch zwischen der prompten und hohen Realisationsrate chemisch oder physikalisch induzierter, maligner Tumoren und der Virustheorie.

Eine Variation der Virustheorie stellt die Hypothese der endogenen Viren dar.
Sie geht von der Vorstellung aus, daß kanzerisierende Noxen mutativ selbstreproduzierbare Genome des Zellkerns abspalten.
Graffi (1966) vermutet aufgrund fluoreszenz-mikroskopischer Untersuchungen der zellulären Verteilung kanzerogener Substanzen, daß autoreduplizierende, zytoplasmatische Organellen, speziell Mitochondrien und Mikrosomen sowie Elemente des Golgi-Apparates, sich infolge mutativer Veränderungen zu endogenen, krebserzeugenden Viren entwickeln können.
Auch das Auffinden eines aus DNS bestehenden "Transforming Factors" bei verschiedenen Bakterienstämmen unterstützt diese Auffassung einer endogenen Virusgenese aus dem Nukleinsäurebestand der Chromosomen.
Durch den Vorgang der Kanzerisierung, so die Vorstellung, werden die, in allen somatischen Zellen in der DNS seit Beginn der Evolution vorhandenen, Virusgenen aktiviert.
Diese sind normalerweise durch Repressionssysteme ständig inaktiviert.
Das Virogen selbst setzt sich aus mehreren kleinen Untereinheiten zusammen, die, falls ein komplettes Virus kodiert werden soll, alle ausgeschaltet werden müssen.
Auch für die Produktion des transformierenden Proteins interner und externer Virusantigene, sowie Polymerasen ist das Virogen verantwortlich. Wird jedoch nur ein Teil des Virogens, nämlich das Onkogen ausgeschaltet, erleidet die Zelle maligne Transformation.

Insoweit kommt auch hier die Proteindeletionstheorie ins Spiel, da eine Deletion, sprich Elimination, eines Proteins, hier des Repressors, notwendig ist, um die Reaktion in Gang zu bringen.
Dies erklärt gleichzeitig auch, warum die unterschiedlichsten Reize zur Auslösung und/oder Beschleunigung einer inhärenten Anlage der Säugetierzelle zur Krebsentwicklung führen können.
Damit wäre festgestellt, daß alle Säugetiere, und damit auch der Mensch, den Keim der eigenen Zerstörung tausendfach in sich tragen.

4.2. Das Karzinogen trans-4-Dimethylaminostilben

Das Karzinogen t-4-DAS vermag in einem hohen Prozentsatz Tumoren an der Gehörgangsdrüse der Ratte (Zymbaldrüse) auszulösen.
Die in diesem Zusammenhang auftauchende Frage nach der Organotropie der Substanz kann zur Zeit noch nicht endgültig beantwortet werden. Sicher scheint jedoch zu sein, wie vergleichende Untersuchungen der chemischen Zusammensetzung der Karzinogene Buttergelb, DAS und Dimethylaminodiphenyl ergaben, daß die Organotropie von dem Grundbaustein abhängig ist, also von den beiden Benzolringen und der Brücke, die sie untereinander verbindet (Druckrey und Mitarb. 1967). Eine auffällige Anreicherung im Talgdrüsengewebe findet jedenfalls nicht statt, wie Untersuchungen von Rijosk und Neumann (1971) ergaben.

Die notwendige Aktivierung des t-4-DAS zu den ultimalen Karzinogenen erfolgt nach Neumann und Mitarb. (1970) in der Rattenleber, wobei in identischen Geweben unterschiedliche Stoffwechselwege beschritten werden können, so über Proteinbindung (Methionin) oder Acetylen-Epoxid-Bindung.

Die Art der Bindung der reaktiven Stoffwechselprodukte des t-4-DAS an die genetische Substanz konnte bislang ebenfalls nicht eindeutig geklärt werden.
Diskutiert wird in diesem Zusammenhang die Bindung an die sog. h_2-Proteine. (vgl. Kapitel 4.1)

Als gesichert gelten darf jedoch nach übereinstimmenden Beobachtungen von Neumann u.a. (1970), Haddow und Mitarbeiter (1948) sowie Druckrey und Mitarb. (1967), daß das Karzinogen am Ort der Aktivierung, der Rattenleber keine morphologischen Veränderungen hervorruft. Allerdings berichten Schmähl und Thomas (1965) von einer cirrhogenen Wirkung bei hohen Tagesdosen. Lebertumoren konnten aber auch diese Autoren nicht beobachten.

Abhängig von der Fütterungsdosis sowie der Fütterungszeit erzielten verschiedene Autoren unterschiedliche Tumorausbeuten durch das t-4-DAS bzw. Abkömmlinge dieser Substanz.

Die Tumorausbeute der hier vorliegenden Arbeit beträgt 93,3 %. Tawfic (1965) berichtet von einer Manifestationsrate von praeneo- und neoplastischen Veränderungen von 90 % bei Donryu-Ratten, die über einen Zeitraum von 15 Monaten bis zu einer Gesamtdosis von 120 mg t-4-DAS gefüttert wurden. Weiter beobachteten Schmähl und Thomas (1965) bei Albino-Ratten eine Tumorausbeute zwischen 75 % und 100 %, wobei eine mittlere Gesamtdosis von 382 $\pm$ 45 mg/Kg bzw. 405 $\pm$ 77 mg/Kg verfüttert wurden. Die Tumorinduktionszeit betrug dabei 319 bzw. 238 Tage.
Baldwin und Mitarb. (1968) wiederum erzielten durch die Gabe von 4-Acetaminostilben sowie N-Hydroxyacetaminostilben, beides Stoffwechselprodukte des t-4-DAS, eine Tumorinzidenz von 95 % bzw. 88 % bei Wistar-Ratten.

Die durch andere Karzinogene hervorgerufenen Tumoren an der Zymbaldrüse weisen eine auch nicht annähernd so hohe Tumormanifestationsrate wie das DAS auf.
So erzielten Schardein und Kaump (1966) mit Tris-p-aminophenyl-carbonium-pamoat eine Tumorausbeute an Holtzmann-Ratten zwischen 17 % und 57 %, Gubareva und Pliss (1966) mit Ortho-Tolidin eine Ausbeute von 40 %, sowie mit 3,5-Dichlorbenzidin von 32,8 % an Zymbaldrüsentumoren.
Auch die Verabreichung von 2-Acetylaminofluoren durch Skoryna und Mitarb. (1951) erbrachtenur in 57 % der Fälle Tumoren bei einem Ratteninzuchtstamm.

All diese Ergebnisse zeigen die hohe karzinógene Potenz des t-4-DAS auf die Gehörgangsdrüse der Ratte.

Die Reaktion der Zymbaldrüse auf das Karzinogen in Form der daraus resultierenden praeneo- und neoplastischen Veränderungen, erweist sich jedoch als durchaus unterschiedlich.
Stets finden sich jedoch zwei Formen der Karzinogenese (Herrmann 1974).

1.) Die direkte Karzinogenese, bei der während der malignen Zelltransformation keine Hyperplasie beobachtet wird, bevor die neoplastische Proliferation einsetzt.
Der Verlauf der Karzinogenese ist stadienhaft.

2.) Die indirekte oder Hyperplasiokarzinogenese, in deren Verlauf es regelmäßig vor der endgültigen Tumormanifestation zum Auftreten von hyperplastischen Tumorstufen kommt.
Auch die Hyperplasiokarzinogenese nimmt einen stadienhaften Verlauf.

So wurden bei etwa einem Viertel der Tiere dieser Untersuchung hyperplasiogene praeneo- und neoplastische Veränderungen gefunden.
Auch Herrmann (1974) beobachtete unter insgesamt 1640 praeneoplastischen Veränderungen 154 (=10,36 %) hyperplasiogenen Ursprungs.

Diese Art der Entstehung von Neoplasien aus hyperplastischen Arealen in der Zymbaldrüse von Donryu-Ratten nach Gabe von t-4-DAS wurde auch von Tawfic (1965) bestätigt.
Schardein und Kaump (1966) beobachteten gleiches an zystisch dilatierten Zymbaldrüsenlobuli.

Die in diesem Zusammenhang auftauchende Frage nach der Ursache des hyperplasiogenen Effekts muß vorerst unbeantwortet bleiben, da einerseits eine direkte hyperplasiogene

Wirkung des Karzinogens denkbar wäre, andererseits jedoch dieser Effekt ebenso eine Folge der veränderten Zellregulation, als Ausdruck einer gestörten Zellbiochemie, sein könnte.

4.3. Morphologie und Stoffwechselveränderungen während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese

Die durch das t-4-DAS an der Gehörgangsdrüse der Ratte hervorgerufenen molekularbiologischen und morphologischen Veränderungen lassen - so beweist auch diese Arbeit - einen stadienhaften Verlauf erkennen, wie ihn Herrmann 1974 erstmals vorstellte.

Auf diese Weise zeigen sich bereits relativ früh nach Beginn der Kanzerisierung erste Störungen im Normalenzymmuster, noch lange bevor morphologische Veränderungen der Talgdrüsenzellen beobachtet werden können.
Erstmals um den 80. Tag nach Kanzerisierungsbeginn kommt es zum Auftreten einer vorher nicht nachweisbaren AP.
Dies entspricht dem Stadium I nach Herrmann (1974).
Der Häufigkeitsgipfel dieses Stadiums lässt sich um den 140. Tag nach Kanzerisierungsbeginn beobachten. Dabei beträgt die Verweildauer in diesem Stadium in der Regel ca. 20 Tage. Danach erfolgt der Übergang in das Stadium II, das durch eine Abschwächung der Cytochromoxidase-, der 5-Bromindoxylacetatesterase-, der a-Naphtylacetatesterase-, sowie der Glukose-6-phosphat-dehydrogenase-Aktivität gekennzeichnet ist. Dieses Stadium wird in der Regel rasch durchlaufen.

Mit Eintritt in das Stadium III, das seinen Häufigkeitsgipfel in der Zeit zwischen dem 15O. und 19o. Tag aufweist, kommt es erstmals, neben der stark ausgeprägten Aktivität der AP sowie einer Abschwächung der LDH- und NAD·H-Diaphorase-Aktivität, zu morphologisch faßbaren Veränderungen der Talgzellen.
Charakteristisch für dieses Stadium ist das Verblassen des Cytoplasmas mit einer Entrundung und Faltelung der äußeren Zellmembran. Der Verlust an cytoplasmatischen Zellbestandteilen führt zu einem Näheraneinanderrücken der Zellkerne, wobei bereits auch Schwankungen in der Zellkerngröße beobachtet werden können.
Trotzdem sind die Zellen dieses Stadiums durchaus noch als atypische Talgzellen zu erkennen.
Die Dauer dieses Stadiums ist nach den Untersuchungen von Herrmann nur sehr kurz und wird in etwa drei bis vier Tagen durchlaufen. Dies deckt sich auch mit den Beobachtungen im Rahmen dieser Untersuchung.

Von besonderer Bedeutung für die hier vorliegende Arbeit ist, daß bereits in diesem relativ frühen Stadium der Karzinogenese der Ausfall der spezifischen Zellfunktion, nämlich die Synthese fettiger Substanzen, manifest wird, nachdem schon im Stadium II eine teilweise deutliche Aktivitätsminderung der Talgproduktion anhand der Sudan-III-Färbung signalisiert wurde.

Wie Talguntersuchungen von Wheatly und James (1957) ergaben, besteht der Talg der Ratte aus einer Mischung unterschiedlichster Fettsubstanzen und Zelltrümmern.
In der Masse handelt es sich um gebundene Fettsäuren, Wachsalkohole und deren Ester, Cholesterol und Lathosterol.
Weiterhin finden sich darin geringere Mengen von freien Fettsäuren und Triglyzeriden, Paraffinen sowie verschiedene Sterole.
Insgesamt resultiert daraus ein komplexes Gemisch unterschiedlichster Lipide.

Derart differenzierte Zelleistungen - so zeigt sich im Folgenden - vermag aber nur die intakte oder die in ihrer Homoiostase nur wenig veränderte Talgzelle zu erbringen. Dies wird verständlich durch die Betrachtung der komplizierten und stark energieabhängigen Reaktionsabläufe während der Fettsynthese.

Das Schlüsselprodukt für die Synthese aller Lipide stellt das Acetyl-CoA dar. Es erweist sich somit nicht nur als Ausgangsstoff für die Isoprenoidlipidsynthese (Steroide und Carotinoide), sondern auch als Baustein für die Synthese der Fettsäuren, die selbst wiederum als die Grundsubstanzen der unterschiedlichsten Fettverbindungen fungieren.

Die Synthese der Fettsäuren erfolgt im Cytoplasma. Demgegenüber entsteht das Ausgangsmaterial Acetyl-CoA im aeroben Kohlenhydratabbau durch oxydative Decarboxylierung des Pyruvats in den Mitochondrien. Da die Mitochondrienmembran für Acetyl-CoA undurchlässig ist, müssen Wege gefunden werden, um das Acetyl-CoA in den extramitochondrialen Raum zu schleusen.
Dieser energieverzehrende und relativ anfällige Schritt vollzieht sich auf zwei Wegen:

1.) Über die Adenosintriphosphat (=ATP)-abhängige Spaltung von Citrat, und die
2.) Acetat-Thiokinase-Reaktion.

Das aufgrund dieser beiden Reaktionen aus Acetyl-CoA entstandene Acetat und Citrat vermag in das Cytoplasma zu diffundieren, wo über eine wiederum ATP-abhängige Reaktion die Resynthese des Acetyl-CoA stattfindet.
Das entstandene Acetyl-CoA wird zunächst carboxyliert zu dem besonders reaktionsfähigen Malonyl-CoA; auch diese Reaktion ist ATP-abhängig und verläuft über das "aktive Carboxyl", das Carboxybiotin.

Nach Lynen und Mitarb. (1958) vollziehen sich die nun folgenden Synthesereaktionen an einem Multienzymkomplex, wobei alle Zwischenstufen an diesem Komplex gebunden bleiben.
Als Startreaktion angesehen wird der Transfer eines Acetylrestes vom Acetyl-CoA auf eine HS·Gruppe, die sich als eine Cysteinseitenkette des Kondensationsenzyms erweist. Anschließend erfolgt die Übertragung von Malonyl-CoA auf eine zweite reaktive HS·Gruppe des Multienzymkomplexes. Nun folgt die Kondensation der Acetylgruppe mit der aktiven CH_2-Gruppe des Malonyl zum ß-Ketosäurederivat, wobei CO_2 eliminiert wird. Die weiteren Schritte - Reduktion der Keto-Gruppe, Dehydratisierung, Hydrierung - vollziehen sich formell als Umkehr der ß-Oxydation. Für beide Reaktionen werden NADP·H und das Flavin-mononukleodit (=FMN) als Coferment benötigt.
Der so um zwei C-Einheiten verlängerte Acylrest wird wieder auf die erste HS Gruppe rückübertragen, wodurch die zentale zweite HS Gruppe frei wird zur Aufnahme eines weiteren Malonyl-Restes. Damit kann diese Reaktionskette von neuem durchlaufen werden.
Soweit zur Fettsäuresynthese.

Auch für die Synthese der Sterole, einem weiteren Talgdrüsenprodukt, erweist sich das Acetyl-CoA als Ausgangssubstanz. Bereits 1922 hatte Ruzicka die Hypothese aufgestellt, daß das Cholesterin und verwandte Naturstoffe wie die Sterole aus sog. Isopren-Einheiten entstehen.
Durch Lynen (1965) und Bloch (1965) wurde dann das aktive Isopren erkannt, das Isopentenylpyrophosphat.
Zunächst war angenommen worden, das aktive Isopren in der Dimethylacrylsäure gefunden zu haben, die entsteht aus drei Molekülen Acetyl-CoA über das Hydroxymethylglutaryl-CoA durch Decarboxylierung.

Dieses Hydroxymethylglutaryl-CoA wird jedoch weiter reduziert und unter Freisetzung von CoA gespalten, wobei die eigentliche Schlüsselsubstanz der Isoprenoidsynthese, die Mevalonsäure entsteht. Diese wird im folgenden Schritt unter Verbrauch von zwei Mol ATP pyrophosphoryliert und unter Verbrauch eines weitern Mol ATP anschließend sowohl decarboxyliert als auch dehydratisiert. Als Produkt erscheint das Isopentenylpyrophosphat, das in einem darauffolgenden Schritt durch eine Isomerase in Dimethylallylpyrophosphat übergeführt wird.
Dieses Allylderivat vermag leicht ein Pyrophosphat-Anion abzuspalten, so daß das zurückbleibende Carboniumkation in der Lage ist, Kettenreaktionen einzuleiten, deren Produkte die unterschiedlichsten Sterole darstellen.

Wie sich zeigte, fungiert das ATP als Energiespender sowohl bei der Synthese der Fettsäurekörper, der Grundsubstanzen der Fette, als auch bei der Synthese der Lipoide. Die dazu nötige Energie entstammt dem Prozess der oxydativen Phosphorylierung der Atmungskette.
Diese, in den Mitochondrien ablaufenden energetischen Vorgänge, stehen wiederum im engen Zusammenhang mit der Energiegewinnung über den Citronesäurezyklus.

Neben dem ATP und dem Acetyl-CoA erweist sich schließlich das NADP·H als wichtiger Reaktionsvermittler bei der Fettsäure-und Sterolsynthese.
So wird beim Aufbau der Fettsäuren das NADP·H als Reduktionsmittel verwendet, ebenso wie es bei der Sterolsynthese zur Reduktion des Hydroxymethylglutaryl-CoA zu Mevalonsäure und zur Bildung des Squalens benötigt wird.

Das für diese Reaktionen nötige NADP·H entstammt praktisch ausschließlich dem Pentosephosphatzyklus, der neben der Bereitstellung von NADP·H die für den Aufbau der Nukleinsäuren benötigten Pentosen liefert (Proteinsynthese!)

Die Pyridinnucleotide NAD^+ und $NADP^+$ sind Coenzyme zahlreicher Dehydrogenasen.
Die eigentliche Bedeutung dieser dissoziablen Coenzyme liegt in der reversiblen Übertragung von Wasserstoff innerhalb der Zelle, weshalb sie von Bücher treffend als "Transportmetabolite" bezeichnet werden.
Dabei haben beide Coenzyme verschiedene Funktion:
das Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat (NADP H) dient dazu - wie oben gehört - bei Biosynthesen den nötigen Wasserstoff oder allgemein "Reduktionsäquivalente" zu liefern, während das NAD·H meist seinen Wasserstoff an die Enzyme der Atmungskette abgibt; dabei wird die Reaktion mit O_2 zu H_2O zur Synthese von ATP genutzt.

Der an NADP·H gebundene Wasserstoff nimmt somit im Stoffwechsel einen anderen Weg als der in Form von NAD·H gebundene. Prinzipiell können jedoch bestimmte Enzyme sog. Tanshydrogenasen die Übertragung des Wasserstoff von NADP·H auf NAD^+ vermitteln, so daß auch hier eine Einschleusung in die energieliefernde Atmungskette möglich ist.

Diese komplexen biochemischen Abläufe, von denen sich die Lipidsynthese als abhängig erwiesen hat, setzen das ungestörte Funktionieren aller Zellstoffwechselsysteme der Talgzelle voraus. Durch das Ineinandergreifen der einzelnen Zellstoffwechselvorgänge innerhalb der Zelle, erweist sich das "Biosystem Zelle" als relativ störanfälliges Gebilde.
So führt bereits der Ausfall einzelner Enzyme oder Enzymgruppen zu einer empfindlichen Störung im Funktionieren der Zelle.

Betrachtet man nun die Veränderungen des Enzymmusters während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzino-

genese und vergleicht sie mit der Funktion der Talgzelle, gemessen an der Produktion von Talg, so resultiert daraus ein einheitliches Bild, welches das Sistieren der spezifischen Zelleistung zu erklären vermag.

So erweist sich das Auftreten einer sonst nicht vorhandenen AP-Aktivität im Stadium I, bei sonst unverändertem Enzymmuster, als unwesentlich für die zellspezifische Funktion der Talgzelle.
Im Gegensatz dazu führen im Stadium II die Aktivitätsminderung der 5-Bromindoxylacetatesterase und der Cytochromoxidase, sowie der Ausfall der Glukose-6-phosphatdehydrogenase zu einem, teilweise deutlich ausgeprägten, Rückgang der Synthese von Fettstoffen, was an der abgeschwächten Sudan-III-Reaktion erkennbar wird.
In diesem Zusammenhang dürften der Aktivitätsminderung der Cytochromoxidase, die mit dem Warburg'schen Atmungsferment identisch ist, sowie dem Ausfall der Glukose-6-phosphatdehydrogenase - Aktivität besondere Bedeutung zukommen.

Die Abschwächung der Cytochromoxidase, des Schlüsselenzyms der oxydativen Phosphorylierung in der Atmungskette, verursacht eine gedrosselte Bereitstellung von ATP, welches, wie oben erläutert, für die Lipidsynthese von entscheidender Bedeutung ist. Zusätzlich kommt es durch das Fehlen des Starterenzyms (Glukose-6-phosphatdehydrogenase) für den oxydativen Abbauweg der Glukose zu einer mangelnden Bereitstellung von NADP·H für die Reduktionsvorgänge während der Fettsynthese.

Dies führt durch das Hinzutreten einer starken Aktivitätsminderung der LDH und der NAD·H-Diaphorase bereits im darauffolgenden Stadium III zum völligen Erliegen der zellspezifischen Funktion der Talgzelle.

Lässt sich der Ausfall der organspezifischen Funktion der Zymbaldrüse allein durch die Drosselung bzw. den Ausfall dieser Enzyme und die damit verbundene, gestörte Bereitstellung von Energie (ATP) und Reduktionsäquivalenten (NADP•H und NAD•H) erklären, so erweist sich darüber hinaus die Störung der Lipidsynthese - unabhängig von der organspezifischen Funktion - für das weitere Schicksal der Zelle als mindestens ebenso bedeutsam:

Infolge der Lipidsynthesestörung kommt es zu einem mangelhaften Aufbau der Zellmembranen, die ja weitgehend aus Phospho- und Glykolipiden sowie Proteinen bestehen.
Die Aufgaben der Membranen erweisen sich als vielfältig.

So reicht die Aufgabenstellung der äußeren Zellmembran vom Wasserionentransport bis hin zur genetisch kontrollierten Zellspezifität (Green, D.E. 1972)
Nicht minder groß die Bedeutung des Systems der inneren Membranen, das vor allem durch das Endoplasmatische Redikulum (=ER) repräsentiert wird.
Dieses unterteilt als mannigfach gestaltetes Membransystem das Zellinnere in zahlreiche Reaktionsräume.
Dabei werden zwei Formen des ER unterschieden, nämlich das glatte und das rauhe ER.

Das rauhe ER verdankt seinen Namen dem Reichtum an etwa 150 A großen, elektronendichten amorphen Granula, den Ribosomen.
Ribosomen sind die Produktionsstätten der Proteine einschließlich der Zellenzyme, so daß die während der Karzinogenese auftretenden Störungen besonders in diesem Bereich der Zelle zu lokalisieren sind.
Dies deckt sich auch mit den Beobachtungen, die im Rahmen der Untersuchungen zur Proteindeletionstheorie und Konvergenztheorie gemacht wurden. (vgl. Kapitel 4.1)

Demgegenüber gibt es eindeutige Hinweise darauf, daß das

glatte ER besonders im Dienste des Lipid- und Lipoidstoffwechsels steht.
Dies ergaben übereinstimmend elektronenoptische Untersuchungen der Talgzelle von Bell (1971) und Niizuma (1977), die das glatte ER eindeutig als Syntheseort der Triglyzeride identifizierten.
Somit könnte ein Circulus vitiosus innerhalb der Lipidsynthese vorliegen in der Gestalt, daß über die gestörte Lipidsynthese, infolge unzureichender Energiebereitstellung, eine Störung der Membranfunktionen innerhalb des ER auftritt, was sich wiederum negativ auf die Fettsynthese und die Gesamtzelle auswirkt.

Derartige Beeinträchtigungen der Membranen einschließlich des ER lassen sich gut mit den morphologischen Veränderungen, die im Stadium III manifest werden, in Einklang bringen.
So zeigt sich im Stadium III eine Entrundung und Faltung der äußeren Zellmembran, sowie eine deutliche Verringerung des cytoplasmatischen Mantels.
Diese Beobachtung bestätigt gleichzeitig die Vermutung, daß die Zellmorphologie in ganz erheblichen Umfang durch die Zellfunktion mitgeprägt wird.

Weiterhin erweist sich das Stadium III als das Stadium, in dem die Weichen für das weitere Schicksal der Zelle gestellt werden.
So kommt es im späten Stadium III oder frühen Stadium IV - von Herrmann (1974) auch als Übergangsstadium III - IV bezeichnet - zu einer nur kurzfristig beobachteten Glykogenspeicherung im Cytoplasma.
Gleiches wurde bereits 1971 von P. Bannasch und H. zur Hausen an mit Nitrosamin cancerisierten Leberzellen beobachtet.
Als Ursache vermuten die Autoren irreversible, toxische Defekte glykogenolytischer Enzyme, etwa der Glukose-6-phosphatase oder Phosphorylase.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit gibt es Hinweise, daß neben dem Ausfall der Glukose-6-phosphatase bzw. Glukose-6-phosphorylase auch dem Sistieren der Glukose-6-phosphat-dehydrogenase eine besondere Bedeutung beigemessen werden muß.
Durch Ausfall dieses NADP - abhängigen Enzyms, könnte es über die mangelnde Einschleusung in den Pentosephosphatzyklus zu einer Stimulierung der Glykoneogenese infolge Substratanhäufung von Glukose-6-phosphat kommen.
Als direkte Folge davon könnte der positive Ausfall der Glykogenreaktion im späten Stadium III gedeutet werden.
In der zweiten Phase der neoplastischen Entartung schließt sich nach einer Latenzzeit von einigen Wochen oder Monaten die Transformation der Glykogenspeicherzellen in glykogenfreie Hepatomzellen an.
Auch diese Beobachtung von P. Bannasch und H.z. Hausen (1971) deckt sich mit den eigenen Untersuchungen, da spätestens mit Beendigung des Stadiums IV die Glykogenspeicherung in den "Talgzellen" nicht mehr angetroffen wird.
Weiterhin stellen die Autoren fest, daß mit dem Verschwinden des zunächst verstärkt gespeicherten Glykogens, regelmäßig eine Veränderung des Cytoplasmas mit Ribosomenvermehrung stattfindet.
Wodurch diese Stoffwechselumstellung verursacht wird, ist bis heute unklar. Da sie jedoch offenbar eng mit dem Beginn des autonomen Wachstums gekoppelt ist, liegt es zweifellos nahe, sie mit dem Auftreten der von Warburg entdeckten und als letzte Ursache des Krebses gedeuteten, aeroben Glykolyse der Tumorzellen in Zusammenhang zu bringen. (vgl. Stoffwechseltheorie Kapitel 4.1)

Auf diese Weise vollzieht sich mit Eintritt in das Stadium IV ein noch ausgeprägterer Wandel der cancerisierten Talgzellen. So verblassen die bisher deutlich erkennbaren äußeren Zellmembranen noch mehr und umschließen ein in der HE-Färbung kaum noch darstellbares, strukturarmes Cytoplasma.

In diesem Zusammenhang muß noch einmal auf die Bedeutung der Membrane und Lipide für den Kontakt und die Bindung der Zellen untereinander hingewiesen werden.
So sind neben den Desmosomen (junktionaler Komplex) auch Glykolipide mit a-Glykosidbindungen (Kontaktsensitive Gruppen) für den Kontakt der Zellen untereinander verantwortlich.
Erfahren diese Strukturen im Rahmen der malignen Transformation der Zelle eine Änderung, so kann infolge der veränderten Zelloberfläche (inkomplette Synthese der Kohlenhydratketten; Kohlenhydratketten teilweise nicht von Peptiden bedeckt) die Kontaktinhibition gestört sein, so daß die Zellen übereinander wachsen können.

Tatsächlich weisen die Zellen des Stadiums IV nur noch extrem selten Ähnlichkeit auf mit ihrem Muttergewebe, den Talgzellen, vielmehr erinnern sie zunehmend an Basal- bzw. Plattenepithelzellen, die jederzeit in autonomes, aggressives Wachstum fallen können.

So werden mit dem 210. Tag nach Kanzerisierungsbeginn nur noch Herde des Stadiums IV oder V vorgefunden, gleichzeitig damit aber bereits ab dem 150. Tag Karzinome.

Als auffällig erweisen sich weiterhin der Ausfall der AP, das Auftreten der Adenosintriphosphatase (ATP-ase), sowie eine Aktivitätssteigerung der Succinatdehydrogenase (SDH). Matsumara (1966) konstatierte als erste Reaktion auf die Implantation von Dimethylbenzanthrazen (DMBA)-Kügelchen in die Speicheldrüse der Maus ein Ansteigen der AP. Dies führt er jedoch in erster Linie auf den chirurgischen Eingriff zurück. Demgegenüber fand Herrmann (1974) bei Untersuchungen zur Epithelregeneration am Gehörgang und an der Zymbaldrüse der Ratte, daß durch chirurgische Manipulationen keine AP-Aktivität induzierbar ist. Ihr Auftreten muß vielmehr mit dem Durchlaufen eines Stadiums der malignen Transformation in Zusammenhang gebracht werden.

Zu gleichen Ergebnissen gelangten auch Vakhter und Kool (1967) bei Untersuchungen von kanzerisierter Kaninchenhaut.
Die Aufgabe der AP besteht in der Aufspaltung der energiereichen Phosphorsäureester, so daß ihr Auftreten letztlich im Zusammenhang mit der gestörten Energiegewinnung im Rahmen der Karzinomentwicklung zu sehen ist.
Parallelen mit dem Auftreten bei bösartigen Geschwülsten, z.B. bei bestimmten Leukosen des Menschen, drängen sich auf.

Gleichzeitig mit dem Ausfall der AP tritt kurzfristig eine starke ATP-ase - Aktivität auf, deren Aufgabe es ist, die Bildung von Adenosindiphosphat (ADP) und anorganischem Phosphat aus dem ATP zu katalysieren.
Dazu könnte wiederum auch die Aktivitätssteigerung der SDH passen, einem Enzym, das via Atmungskette für die Bereitstellung von ATP sorgt.

Nach dem Ausfall der Cytochromoxidase könnte auch hier erneut eine Substratinduktion und/oder ein Kompensationsstoffwechsel zur zusätzlichen Ennergiegewinnung vorliegen.
Für die 1. Theorie spricht, daß Herrmann (1974) an Gehörgangstumoren der Ratte, ebenso wie Schauer und Mitarb. (1972) in Enzymdefektbezirken von kanzerisierten Harnblasen-Epithelien, in denen unter anderem eine starke Abschwächung der NAD·H-Diaphorase gefunden wurde, einen nicht minder starken Anstieg der SDH feststellten.
Demgegenüber könnte der Anstieg der SDH und der damit unter Umständen verbundene, vermehrte Anfall von energiereichem Phosphat, als Kompensationsreaktion auf die erhöhte ATP-ase - Aktivität verstanden werden.
Derartige Überlegungen besitzen jedoch rein hypothetischen Charakter, solange sie nicht durch die Entwicklung entsprechender biochemischer Methoden beweisbar werden.

Als letztes praeneoplastisches Stadium der direkten Karzinogenese fungiert das Stadium V.

Es unterscheidet sich im wesentlichen durch den Ausfall der ATP-ase vom vorausgehenden Stadium IV und wird wie dieses Stadium nicht vor dem 150. Tag nach Kanzerisierungsbeginn angetroffen.
Der ^{3}H - Thymidin-Markierungsindex beträgt, so die Untersuchungen von Herrmann (1974), ebenso wie im Stadium IV 12,5 % (Normalepithel 5,8%).
Damit hat es die für das neoplastische Wachstum typische Höhe von 16,6% - 23,3% noch nicht erreicht.

Der Übergang in das ungebremste, neoplastische Wachstum ist wie schon im Stadium IV jederzeit möglich.

4.4. Die Neoplasietypen der Zymbaldrüse

Das Karzinogen t-4-DAS ruft in einem hohen Prozentsatz Tumoren an der Gehörgangsdrüse der Ratte hervor (H.N. Tawfic, 1965; Schmähl und Thomas, 1965; Baldwin u.a. 1968).

Demgegenüber werden spontan entstandene Tumoren am Rattengehörgang und seinen Anhangsgebilden nur sehr selten beobachtet. Dabei handelt es sich ausschließlich um bestimmte Stämme und/oder alte Tiere.
Tannenbaum u.a. (1962) beschrieben Tumoren bei 3 von 105 Sprague-Dawley Ratten, die etwa 800 Tage alt waren.
Snell (1965) berichtete von 3 Plattenepithelkarzinomen bei Osborne-Mendel Ratten und von weiteren 2 bei M520 Ratten.
Schardein und Kaump (1966) beobachteten gutartige Cystadenome bei 3 von 101 Holtzmann Ratten, die etwa 420 Tage alt waren.

Gilbert u.a. (1958) fanden hingegen nur ein Talgdrüsen-Karzinom in einer Population von 1342 Wistar-Ratten.

Demgegenüber konnten weder A. Rosin und M. Rachmilewitz (1954) noch Crain (1958) sowie I. Herrmann und A. Schauer (1973) einen einzigen Fall von Spontantumorbildung am Rattengehörgang oder seinen Anhangsgebilden finden.
Die untersuchte Tierzahl betrug dabei 7486 (4000 Albino-Ratten des Hebrews-University-Stammes und 3486 Wistar-Ratten) Ratten.

All dies läßt den Schluß zu, daß die 60 beobachteten Tumorherde, an den 45 Wistar-Ratten dieser Untersuchung, ausschließlich auf die Zufuhr des Karzinogens zurückzuführen sind.
Da zudem drei dieser Tiere keinerlei pathologische Veränderungen aufwiesen, wurden bei der Mehrzahl der Tiere mehr als ein Tumorherd vorgefunden (Durchschnitts-Wert 1,4 Tumoren pro Tier).

Am weitaus häufigsten , nämlich in knapp 62% der Fälle, wurde das Plattenepithelkarzinom angetroffen, das z.T. mehr oder weniger stark ausgeprägte Verhornung aufweisen konnte.
Bereits deutlich seltener wurden das Undifferenzierte Karzinom (ca. 18%) und das Mixed-type-Karzinom (ca. 17%) beobachtet, gefolgt mit deutlichem Abstand vom Kleinzelligen Karzinom (ca. 3%).
Gutartige Geschwulste im Sinne von Adenomen mit oder ohne Talgzelldifferenzierung, wie sie von Pliss (1973) und Zackheim (1973) beschrieben wurden, konnten in der untersuchten Population nicht beobachtet werden, ebenso nicht das weitaus seltener auftretende, reine Talgzellkarzinom.
Nicht gefunden werden konnte weiterhin das von Pliss beobachtete, wiederum seltene Adenokarzinom, dessen Ursprung aus der Zymbaldrüse als nicht gesichert gilt, da seine Entwicklung aus der benachbart liegenden Parotisdrüse vom Autor zumindest nicht ausgeschlossen werden konnte.

In Übereinstimmung mit der hier vorliegenden Arbeit fanden Pliss (1973) und andere Autoren (Cox, Wilson und De Eds, 1947; Laws u.a., 1955; Skoryna, Ross und Rudis, 1951; Symeonidis, 1954; Spitz, Magnigan und Dobriner, 1950; Haddow u.a., 1948; Walpole, Williams und Roberts, 1952; Tawfic, 1965; Miller und Miller, 1961; Geyer u.a. 1953; Prigozhina, 1958; Gruenstein, Meranze und Shimkin, 1966; I.F. Herrmann, 1974;) nach Verabreichung der unterschiedlichsten Karzinogene ein deutliches Überwiegen der Plattenepithelkarzinome mit oder seltener ohne Verhornung, gefolgt vom Mixed-type-Karzinom (= Talgdrüsen-Plattenepithel Karzinom nach Pliss).

Über die Entstehung der Tumoren hinsichtlich Muttergewebe und Entstehungsmodus, herrscht unter den Autoren keine einheitliche Ansicht.

So gehen Pinkus (1959) sowie Urban und Winkelmann (1961) davon aus, daß es in der Epidermis oder den darin liegenden Strukturen sog. Pluripotente Zellen gibt, die befähigt sind, sich in die verschiedensten Zelltypen und Zellstrukturen zu differenzieren.
Damit versuchen diese Autoren die Vielfalt der, nach Verabreichung eines Karzinogens, beobachteten Neoplasietypen zu erklären. Dies bedeutet, daß der karzinogene Reiz auf die pluripotente Zelle trifft, wo er, nur vom Zufall abhängig, die Entwicklung eines bestimmten Neoplasietyps einleitet.
Dies widerspricht der Beobachtung, daß, selbst nach Verabreichung der unterschiedlichsten Karzinogene, überwiegend Plattenepithel-Karzinome entstehen, während, bei Richtigkeit der obigen These, ein in etwa gleichmäßig, statistisch verteiltes Auftreten aller Tumortypen erwartet werden müßte.

Zackheim (1973) und Pliss (1973) wiederum vermuten im Falle des Mixed-Type-Karzinoms, daß dieser Tumortyp aus zwei verschiedenen Gewebearten entstanden ist.

So sollen sich die Plattenepithelanteile vom Epithel der Drüsenausführungsgänge (Ductuli und Ductus) ableiten, während die Talgzellanteile ihren Ursprung in der eigentlichen Talgdrüse haben sollen.

Im Gegensatz dazu deuten die Untersuchungen von Herrmann (1974) relativ eindeutig daraufhin, und das bestätigt auch diese Arbeit, daß die Talgzellen der Zymbaldrüse als das eigentliche Muttergewebe der unterschiedlichen Tumoren angesehen werden müssen.
Die Entwicklung der einzelnen Neoplasietypen vollzieht sich dabei auf zwei verschiedenen Wegen, zum einen über den Weg der direkten Karzinogenese, zum anderen über, oder mit der Parallelentwicklung von hyperplastischen Vorstufen.
Der Verlauf beider Wege erweist sich als stadienhaft.
In Übereinstimmung mit der vorliegenden Arbeit, berichten die verschiedensten Autoren, im Zusammenhang mit der Tumorentwicklung, speziell dem Mixed-Type-Karzinom und Plattenepithel-Karzinom (= Sebaceous squamous cell bzw. Squamous cell Carcinoma), über die Beobachtung von kleinen adenomatösen Knoten (Schardein u. Kaump, 1966), hyperplastisch veränderten Talgzellen mit Basalzellproliferation (Zackheim, 1973), sowie von einer lobulären , zystischen Dilatation (Pliss, 1973; Skoryna u.a., 1952) als tumoröse Vorstufen.

Diese Befunde decken sich mit den in diesem Rahmen gemachten eigenen Beobachtungen. Dabei lassen sich alle morphologischen Veränderungen in den stadienhaften Ablauf der Karzinogenese, wie er von Herrmann (1974) vorgestellt wurde, einordnen.

Als ebenso bedeutsam erscheint auch das häufig miteinander gekoppelte Auftreten des Mixed-Type-Karzinoms mit dem Plattenepithel-Karzinom, die sich teilweise rein histologisch nur schwer voneinander differenzieren lassen.
Daraus ergibt sich zumindest die Möglichkeit eines teilweise Ineinanderübergehens des weniger dedifferenzierten Mixed-Type-Karzinoms (s. Enzymkonstellation) in das völlig ausdifferenzierte, verhornende Plattenepithel-Karzinom.

In Übereinstimmung damit, wurden in der Untersuchung von Herrmann (1974) in der Zeit zwischen dem 240. und 360. Tag nach Kanzerisierungsbeginn überwiegend Mixed-Type-Karzinome beobachtet, während später überwiegend verhornende Plattenepithel-Karzinome angetroffen werden konnten. Dies könnte als Arbeitshypothese Grundlage für eine weitere Untersuchung sein.
Die Verwendung enzymhistochemischer Methoden erscheint in diesem Zusammenhang zumindest problematisch, da, wie Tab. 7 zeigt, die Tumoren einfache, nur wenig voneinander abweichende Enzymmuster aufweisen.

Als besonders charakteristisch für die Talgdrüsentumoren erweist sich dabei die Aktivität der Sauren Phosphatase, die mit Beginn des invasiven Wachstums in fast allen Tumoren oder dem unmittelbar angrenzenden Bindegewebe angetroffen wird.

Diese Beobachtungen entsprechen ganz den Ergebnissen, die im Rahmen der Untersuchungen zur Konvergenztheorie der Krebsentstehung gemacht wurden.
Danach weisen die Krebszellen untereinander mehr gleiche Eigenschaften auf als mit dem ihnen zugrundeliegenden Muttergewebe. (vgl. Kapitel 4.1)

Aufschluß über Herkunft und Funktion der aus Talgdrüsen entstandenen Tumoren kann, so zeigt diese Arbeit, anhand von Fettfärbungen (hier Sudan-III) gewonnen werden, die parallel zu den histologischen und enzymhistochemischen Färbungen durchgeführt werden müssen.

So zeigt sich, wie es schon die Ergebnisse im Rahmen des stadienhaften Verlaufs der Karzinogenese vermuten ließen, daß mit zunehmender Entdifferenzierung und Entfernung vom Muttergewebe, ein Sistieren der organspezifischen Funktion auftritt.
Ein totaler Funktionsausfall wird sowohl beim Kleinzelligen - als auch beim Undifferenzierten Karzinom vorgefunden.

Die Sudan-III-Reaktion erweist sich in allen beobachteten Fällen als negativ. Entsprechend der Verknüpfung von Zellfunktion und Zellmorphologie besitzen diese Tumoren, ebenso wie das Plattenepithel-Karzinom, keinerlei Ähnlichkeit mehr mit Talgzellen. Dennoch können, in einigen wenigen Fällen, Sudan positive Einschlüsse innerhalb von einzelnen Plattenepithelkarzinomzellen beobachtet werden. Anordnung und Ausmaß der Fetteinschlüsse im Zytoplasma erweisen sich überwiegend als diffus und kleinvakuolig. Die Intensität der Sudan-III-Färbung ist stets gering.

Diese Beobachtungen deutete Herrmann (1974) als Hinweis auf das Ursprungsgewebe des Tumors. Die Tumoren müssen also nicht ihre Funktion verlieren, es findet lediglich eine starke Drosselung statt.
Aufgrund der hier vorliegenden Ergebnisse, muß jedoch angenommen werden, daß die Fetteinschlüsse im Zytoplasma der Karzinomzellen als erster Hinweis auf den Beginn einer fettigen Degeneration (kleintropfige Verfettung) zu werten sind. Dafür spricht auch, daß diese Zellen häufig im Zentrum größerer Tumorherde vorgefunden werden. Bei Tumorherden dieser Art werden, anderen Beobachtungen zufolge, nicht selten zentrale Nekrosen angetroffen, die allem Anschein nach auf die verringerte Bereitstellung von Energie per Diffusionem zurückzuführen sein könnten.

Auch das Auftreten massiv Sudan-III-positiver Partikel innerhalb geschichteter Hornlamellen des verhornenden Plattenepithelkarzinoms und des Mixed-Type-Karzinoms muß in diesem Zusammenhang in einem anderen Lichte betrachtet werden. Die Hypothese einer doppelten biologischen Funktion der neoplastisch veränderten Zellen, im Sinne einer Horn- und Talgproduktion, kann, nach den Ergebnissen dieser Untersuchung wahrscheinlich nicht mehr aufrecht erhalten werden. Vielmehr spricht vieles dafür, daß nur dort Sudan-positive Einschlüsse in den Verhornungsschichten beobachtet werden können, wo sich im Falle des Mixed-Type-Karzinoms auch talgzellwertige Zellen befinden, oder wo die verhornende Epithel-

schicht eines Plattenepithelkarzinoms Anschluß an eine talggefüllte Zyste oder einen talgführenden Ausführungsgang gefunden hat.
Hornperlen im Innern eines soliden Plattenepithelkarzinoms verfügen nach den eigenen Untersuchungen dagegen nie über fetthaltige Einschlüsse.

Dies bestätigen auch elektronenmikroskopische Untersuchungen von A. Sato und M. Seiji (1971) im Zusammenhang mit der malignen Dyskeratose bei Leukoplakien und bei der Bowenschen Erkrankung des Menschen.
Die Verhornung wird, so die Autoren, durch den Verlust an Desmosomen (=Makula adhaerens) eingeleitet. Die Malphigischen Zellen (=Statum germinativum Z.), mit Ausnahme der Basalzellen, zeigen typischerweise eine hohe Proteinbiosyntheseaktivität mit einem Anwachsen der Tonofilamente. Diese werden verdächtigt bei dem Prozess der Verhornung eine bedeutsame Rolle zu spielen, indem sie ihre normale Bestimmung verlieren, aggregieren und verklumpen. Diese Tonofilamentklumpen scheinen die Zellteilung mitzubeeinflussen und die Produktion von dyskeratotischen Zellen zu bedingen.

Unabhängig von den obigen Untersuchungen, kann aufgrund der vorliegenden Arbeit davon ausgegangen werden, daß es sich bei der Verhornung um eine Dysfunktion von transformierten Talgzellen handelt, ähnlich der bei Vitamin-A-Mangel gemachten Beobachtung, wo es infolge der Zellstoffwechselstörung zu Verhornungen von Schweiß- und Talgdrüsen mit Hyperkeratosen kommt (Sandritter 1974).

Im Gegensatz zu den übrigen Neoplasietypen verfügt das papillär wachsende, teilweise verhornende Talgzell-Basalzellkarzinom (= Mixed-Type-Ca.) in 100 % der Fälle über eine Restfunktion der Talg- bzw. Fettsynthese, erkenntlich an der positiven Sudan-III-Farbreaktion.

Dies kann jedoch nicht überraschen, da dieser Tumortyp noch über praeneoplastische Veränderungen der Stadien I - III verfügt, und diese Vorstufen, mit Ausnahme des Stadiums III, eine nahezu intakte Fettsynthese aufweisen.

Diese Befunde werden bestätigt durch die Untersuchungen von S.C. Skoryna u.a. (1951), N. Tawfic (1965), sowie G.B. Pliss (1973) und H.S. Zackheim (1973), die alle übereinstimmend von einer Fett- oder Talgproduktion dieser Tumoren berichten.
Veränderungen in der Zusammensetzung des Talgs während der Karzinogenese, und Unterschiede in der Talgzusammensetzung der talgproduzierenden Tumoren gegenüber den Normalzellen, können mit Hilfe der durchgeführten Sudan-III-Farbreaktion nicht erfaßt werden, da alle Fette und Lipoide gleichermaßen angefärbt werden und somit eine Differenzierung nicht möglich ist (H.C. Burck, 1973).

Jedoch müssen neben den quantitativen Veränderungen, die durch die verringerte Farbintensität der Sudanreaktion angezeigt werden, auch qualitative Veränderungen des Talgs vermutet werden.
Dies bestätigen übereinstimmend die Untersuchungen von M.R. Grigor (1976), sowie T. Rossmann, L. Prutkin und V.R. Wheatley (1977) an Talgzelltumoren ESR 586 der Praeputialdrüse der Maus.
Dieser Tumor erwies sich den verschiedensten Autoren als besonders geeignet für Studien der Sterol- und Lipid-Biosynthese (Platt R.D. u.a., 1972; Kandutsch A.A. und Russel A.E., 1959; Snyder F. u.a., 1970;).
In Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Bell (1971) und Niizuma (1977) identifizierten Prutkin u.a. (1977) das ER als den Syntheseort der Zellfettstoffe.
Dabei beobachteten sie, daß es im Laufe des Tumorwachstums zu nachhaltigen Verschiebungen im Verhältnis rauhes ER / glattes ER kommt. Neben der deutlichen Abnahme des glatten

ER kommt es, diesen Autoren zufolge, vor allem zu Zellmembranveränderungen, als deren Folge eine Verdickung und Verplumpung vor allem des endoplasmatisch-redikulären Membransystems auftritt. Dies deckt sich mit den lichtmikroskopischen Befunden dieser Arbeit, die während des stadienhaften Verlaufs der Karzinogenese gemacht wurden.
Gleichzeitig mit der Abnahme des glatten ER und des Golgi-Apparates, sowie der relativen Zunahme des rauhen ER kommt es zu einer stärkeren Veränderung in der Zusammensetzung des sekretorischen Produkts des Talgzell-Karzinoms. Diese Veränderungen betreffen vor allem die polaren Lipide, die Sterolester sowie die Triglyceridfraktion. Insgesamt resultiert daraus ein sowohl in qualitativer, als auch quantitativer Hinsicht stark veränderter Talg.
Diese und/oder ähnliche Befunde müssen auch bei den Vorgängen während der Karzinogenese bzw. beim manifesten Talgdrüsentumor der Zymbaldrüse der Ratte erwartet werden. Dies könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassend kanngesagt werden, daß es, mit Ausnahme des Mixed-Type-Karzinoms (engl. Schrifttum: Sebaceous squamous cell carcinoma), bei den sich von der Gehörgangsdrüse der Ratte ableitenden Tumoren, früher oder später zum Erliegen der organspezifischen Funktion kommt.
Dies bedeutet gleichzeitig, daß bei den manifesten, nicht talgproduzierenden Gehörgangstumoren ein Rückschluß auf das, den Tumoren zugrundeliegende Muttergewebe, nicht möglich ist.

5. Zusammenfassung

Gegenstand der Untersuchungen waren die mit t-4-Dimethylaminostilben cancerisierten Gehörgangsdrüsen von 45 Ratten des Wistar-Stammes.
Besonderes Gewicht galt der Klärung der Frage nach Veränderungen der organspezifischen Funktion der Talgdrüse während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese und der daraus resultierenden, manifesten Tumoren.
Dabei kamen histologische und enzymhistochemische Methoden zur Anwendung.

1.) Mit Hilfe histologischer und enzymhistochemischer Methoden kann ein stadienhafter Verlauf der direkten Karzinogenese bestätigt werden.
Die dabei beobachtete organspezifische Funktion der Zellen, gemessen an der Talgproduktion, kann mittels einer Fettfärbung (hier Sudan-III) sichtbar gemacht werden.

2.) Im Stadium II der Karzinogenese kann eine Verringerung der Talgproduktion nachgewiesen werden, die bereits im darauffolgenden Stadium III zum Erliegen kommt.

3.) Die beobachteten Tumoren entwickeln sich aus den Talgzellen der Rattengehörgangsdrüse.

4.) Die aus der malignen Transformation der Zymbaldrüse hervorgegangenen Tumoren verfügen, mit Ausnahme des Mixed-Type-Karzinoms, über keinerlei organspezifische Funktion mehr.
Ein Rückschluß auf das den Tumoren zugrundeliegende Muttergewebe erweist sich somit als unmöglich (Ausnahme: Mixed-Type-Karzinom.)

5.) Die Beobachtungen der Veränderungen am Enzymmuster, an den Zellstrukturen und in der Zellfunktion ergeben ein einheitliches Bild (Morphologie und Funktion).

6.) Die mikroskopisch erhobenen Befunde werden statistisch aufgeschlüsselt und ausgewertet.

7.) Die während des stadienhaften Verlaufs der direkten Karzinogenese gemachten, organspezifischen Veränderungen werden, an Hand der Biochemie der Talgbildung und der dabei beteiligten Enzyme, Stoffwechselwege und Zellorganellen, am Beispiel der Sterol- und Fettsäuresynthese exemplarisch erörtert.

8.) Die wichtigsten Theorien der Krebsentstehung werden vorgestellt und in Beziehung gesetzt zu den während dieser Untersuchung gemachten Beobachtungen.

9.) Die eigenen Befunde werden an Hand bereits vorliegender Literatur ausführlich diskutiert.
Besondere Berücksichtigung finden verschiedene elektronenoptische Untersuchungen. Dabei ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen diesen und den eigenen lichtmikroskopischen Ergebnissen.

6. Literaturverzeichnis

BALDWIN, R.M., CUNNINGHAM, W.R.D., SMITH, W.R.D. and SURTEES, S.J.: Carcinogenic Action of 4-Acetamino-stilbene and the N-Hydroxy-derivative in the Rat

Brit. J. Cancer 22, 133 (1968)

BANNASCH, P.: Das Zytoplasma der Leberzelle während der Karzinogenese.
Vgl. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Nitrosomorpholin vergifteten Rattenleber.

Würzburg Med.Fach.Hab.Schrift vom 29.04.1968

BANNASCH, P. und H.A. Müller: Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratte und Maus

Z.Arzneimittel-Forsch. 14, 805 (1964)

BANNASCH, P. und H.zur HAUSEN: Zelluläre und molekulare Aspekte der Krebsentstehung

Therapeutische Berichte 1/71, Hrsg. Bayer Leverkusen 43. Jhrg., (1971)

BATES, R.R.: Sex Hormones and Skin Tumorigenesis.
I. Effect of the Estrous Cycle and Castration on Tumorigenesis by 7,12-Dimethyl-benzanthracene

J. nat. Cancer Inst., 41, 559 (1968)

BELL, M.: A comparative Study of Sebaceous Gland Ultrastructure in Human Primates
II. Macaques crystallia Inclusions in the Sebaceous Cells of Macaca mulatta, M. nemestria, M. speciosa, M. fascicularis

J. Cell Biol. 49: 932-936 (1971)

BELL, M.: A Comparative Study of Sebaceous Gland Structure in Subhuman Primates.
III. Macaques Ultrastructure of Sebaceous Glands during Fetal Development of Rhesus Monkeys (Macaca mulatta)

Anat. Rec. 170: 331-342 (1971)

BURCK, H.-Chr.: Histologische Technik
Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis 3. Auflage

G. Thieme Verlag Stuttgart (1973)

BLOCH, K.: Die Biosynthese des Cholesterins

Angew. Chem. 77, 944-954 (1965)

COX, A.J., WILSON, R.H. and De Eds, F.: The Carcinogenic Activity of 2-Acetaminofluorene: Characteristics of the Lesions in Albino-Rats

Cancer Res., 7, 647-657 (1947)

CUTTS, J.H.: Estrone-Induced Mammary Tumors in the Rat
II. Effect of Alterations in the Hormonal Environment on Tumor Induction, Behavior and Growth

Cancer Res., 24, 1116-1123 (1964)

DELBRÜCK, A., SCHIMASSEK, H., BARTSCH, K., BÜCHER, Th.: Enzym-Verteilungsmuster in einigen Organen und in experimentellen Tumoren der Ratte und der Maus

Biochem. Z., Bd. 331, 297-311 (1959)

DOBSON, R.L. and GRIFFIN, M.: The Histrochemistry of Cutaneous Carcinogenesis

J. invest. Derm. 39, 597-603 (1962)

DRUCKREY, H., SCHMÄHL, D., DISCHLER, W., SCHILDBACH, A.: Quantitative Analyse der experimentellen Krebserzeugung Naturwissensch. 49, 217-228 (1962)

DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., IVANKOVIC, S., SCHMÄHL, D.: Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten

Z. Krebsforsch., 69, 103-201 (1967)

EBLING, F.J.: Hormonal Control of Sebaceous Glands in Experimental Animals
in MONTAGNA, W., ELLIS, R.A. and SILVER, A.F.: ADVANCES IN BIOLOGY OF SKIN IV

Pergamon Press, London p200 (1963)

EDER, M.: Zur Darstellung von Wachstum und Differenzierung durch gleichzeitige Autoradiographie mit ^{3}H-Thymidin und histochemische Enzymreaktionen

Naturwissensch. 51, 339 (1964)

EDER, M., GEDIGK, P.: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie 29. Auflage

Springer Verlag Berlin Heidelberg New York (1974)

GERMAN, J.: Genes which Increase Chromosomal Instability in Somatic Cells and Predispose to Cancer

Progr. med. Genet. 8, 61-101 (1972)

GEYER, R.P., BRYANT, J.E., BLEISCH, V.R., PEIRCE, E.M., STARE, F.J.: Effects of Dose and Hormones on Tumor Production in Rats Given Emulsified 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracene Intravenously

Cancer Res., 13, 503-506 (1953)

GILBERT (1958): Aus Morphologie der experimentellen Hauttumoren bei Ratte und Maus

Beitr. Path. Bd. 146, 33-54 (1972)

GRAFFI, A.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Beziehungen zwischen Virus und Geschwulstbildung

Abh. Dtsch. Akad. Wiss. 1, 59 (1966)

GREEN, D.E.: Membrane Structure and its Biological Applications

Ann. N.Y. Acad. Sci. 195 (1972)

GRIGOR, M.R.: The Age Related Occurence of Wax Esters in the Mouse Preputial Gland Tumor

Biochim. et Biophysic. Acta, 431, 157-164 (1976)

GRUENSTEIN, M., MERANZE, D.R. and SHIMKIN, M.B.: Mammary, Sebaceous and Cutaneous Neoplasms and Leukemia in Male Wistar Rats Receiving Repeated Gastric Installations of 3-Methylcholanthrene

Cancer Res., 26, 2202-2205 (1966)

GUBAREVA, A.V. and PLISS, G.B.: On Morphology and Histogenesis of Experimental Zymbal Gland Tumors in the Rat

Vop. Onkol., 12, No. 1, pp 69-76 (1966)

HADDOW, A., HARRIS, R.J.C., KON, G.A., ROE, F.R.S. and ROE, E.M.F.: The Growth-inhibitory and Carcinogen Properties of 4-Aminostilbene and Derivates

Phil. Trans. of Royal Soc. London No. 830, Vol. 241 147-195 (1948)

HAMBSCH, K., KLUGMANN, H.-J.: Klinische Onkologie Ein Kurzgefaßtes Lehrbuch 2. Auflage

Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1971)

HERRMANN, I.F.: Frühveränderungen der Karzinogenese im oberen Respirationstrakt und am äußeren Gehörgang mit seinen Anhangsgebilden -Tierexperim. Untersuch.-

Habil.-Schrift, Ludwig-Max. Univers. München (1974)

HERRMANN, I.F. and SCHAUER, A.: Histochemical and Autoradiographic Studies on Cell Transformation Induced by trans-4-Dimethyl-aminostilbene in the Ceruminal Gland of Rats

2. Europäischer Krebskongress, Heidelberg (1973)

KANDUTSCH, A.A., RUSSEL, A.E.: Preputial Gland Tumors Sterols I. Occurence of 24,25-Dihydrolanosterol and Comparison with Liver and Normal Gland

J. Biol. Chem., 234, 2037-2042 (1959)

KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie 8. Auflage

G. Thieme Verlag Stuttgart (1972)

KRÜGER, F.W., BERTRAM, B.: Metabolism of Nitrosamines in vivo

Z. Krebsforsch. 80, 189-196 (1973)

KUNZE, E., SCHAUER, A.: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen an Dibutylnitrosamin-induzierten Harnblasenpapillomen der Ratte

Z. Krebsforsch. 75, 146-160 (1971)

LAU, M., ROHRBACH, R., THOMAS, C.: Zur Morphologie der experimentell induzierten Hauttumoren bei der Ratte und der haarlosen Maus I. Teil

Beitr. Path. Bd. 146, 33-54 (1972)

LAWS, J.O., RUDALI, G., ROYER, R. and MABILLE, P.: The Early Changes Produced in the Auditory Sebaceous Gland (Zymbal's Gland) of the Rat by 2-Acetylaminofluorene

Cancer Res., 15, 139-142 (1955)

LYNEN, F.: Der Weg von der "aktivierten Essigsäure" zu den Terpenen und Fettsäuren

Angew. Chem. 77, 929-944 (1965)

MATSUMARA, T.: Enzyme Histochemistry of Experimentally Induced Tumors in the Mouse Submaxillary and Sublingual Glands during Carcinogenesis

Gann 57, 251-263 (1966)

METZLER, M. und NEUMANN, H.G.: Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine. IV. Stoffwechselmuster von trans-4-Dimethylaminostilben, cis-4-Dimethylaminostilben und 4-Dimethylaminobibenzyl in Leber, Niere und den Ausscheidungsprodukten der Ratte.

Z. Krebsforsch. 76, 16-39 (1971)

MILLER, J.A. and MILLER, E.C.: The Metabolic Activation of Cancerogenic Aromatic Amines and Amides

Progr. exp. Tumor Res. 11, 273-301 (1969)

MILLER, J.A.: Carcinogenesis by Chemicals: An Overview-G.H.A. Clowes Memorial Lecture

Cancer Res. 30, 559-576 (1970)

MILLER, J.A. and MILLER, E.C.: The Carcinogenicity of 3-Methoxy-4-aminoazobenzene and its N-Methyl-derivates for Extrahepatic Tissues of the Rat.

Cancer Res., 21, 1068-1072 (1961)

MONTAGNA, W., ELLIS, R.A., SILVER, A.F.: Advances in Biology of Skin, IV. The Sebaceous Glands

Pergamon Press, London (1973)

NEUMANN, H.G., METZLER, M., BACHMANN, I., THOMAS, C.: Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine. I. Krebserzeugende Wirksamkeit einiger 4-Aminostilben- und 4-Aminobibenzyl-Verbindungen

Z. Krebsforsch. 74, 200-206 (1970)

NIIZUMA, K.: An Electron Microscopic Study of Sebaceous Epithelioma
A Case Report with Two New Observations on Lipid Droplet Formation

Dermatologica 154, 98-106 (1977)

NIKKARI, T.: Composition and Secretion of the Skin Surface Lipids of the Rat
Effects of Dietary Lipids and Hormones

The Scan. J. of Clinical Laboratory Investigation Suppl. 85
Turku (1965)

OEHLERT, W.: Regeneration und Cancerisierung am Beispiel der epithelialen Wechselgewebe
Aus: Handbuch der Allgemeinen Pathologie. Entwicklung und Wachstum II.

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1969)

OHNO, S.: Gene Implication of Karyological Instability of Malignant Somatic Cells

Physiol. Rev. 51, 496-526 (1971)

PFEUFFER, Th., STENGER, K.O.: Physiologische Chemie II : Lipid Chemie

Gugel Druck Würzburg (1969)

PINKUS, H.: Skin Cancer and Basic Research in Dermatology

J. Invest. Derm. 33, 171-175 (1959)

PINKUS, H.: Pathobiology of the Skin
Proceedings of the 1. International Conference on the Pathobiology of the Skin, Tokyo, Sept. 18-19, (1971)
Ed. by Yutaka Mishima, Stockholm (1973)

Acta Derm. Venerolo. Suppl. 73 (1973)

PLATT, R.D., GRIGOR, M.R. and SNYDER, F.: Acylation of Cholesterol by Microsomal Enzymes from Mouse Preputial Gland Tumors

Arch. Biochem. Biophys., 150, 371-375 (1972)

PLISS, G.B.: Tumors of the Auditory Sebaceous Glands Aus: Pathology of Tumors in Laboratory Animals. Vol. 1 Tumors of the Rat, Part 1. Ed. in Chief: V.S. Turusov

International Agency for Research on Cancer -Lyon 1973-

PRIGOZHINA, E.L.: Cancer of Zymbal's Gland, Leukosis and Other Rat Neoplasms Elicited by 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracene

Vop. Onkol., 4, No. 5, 536-543 (1958)

PRUTKIN, L., ROSSMANN, T.G. and WHEATLEY, V.R.: Ultrastructural Changes and Viral Morphogenesis during the Growth of the Mouse Preputial Gland Tumor ESR 586

Cancer Res., Vol. 37, 551-556 (1977)

PRUTKIN, L., ROSSMANN, T.G. and WHEATLEY, V.R.: Culture of Cloned Cells from the Mouse Preputial Gland Tumor ESR 586

Cancer Res., Vol. 37, 557-560 (1977)

RJOSK, H.K. und NEUMANN H.G.: Zur Bedeutung chemisch-biologischer Wechselwirkungen für die toxische und krebserzeugende Wirkung aromatischer Amine. II. Verteilung der Radioaktivität nach Applikation des Tritium-markierten Carcinogens trans-4-Dimethylaminostilben und 4-Dimethylaminobibenzyl in der Ratte

Z. Krebsforsch. 75, 209-220 (1971)

ROSIN, A. and RACHMILEWITZ, M.: The Development of Malignant Tumors of the Face in Rats after Prolonged Treatment with Thiourea

Cancer Res. 14, 494-496 (1954)

SANDRITTER, W. und BENEKE, G.: Allgemeine Pathologie

F.K. Schattauer Verlag Stuttgart New York (1974)

SATO, A. and SEIJI, M.: Electron Microscopic Observations of Malignant Dyskeratosis in Leukoplakia and Bowen's Disease

Acta Dermatovener., Suppl. 73, 101-110 (1973)

SCHARDEIN, J.L. and KAUMP, D.H.: Auditory Canal Structures in Rats as Altered by Aging and by the Administration of Tris-(p-aminophenyl)-carbonium-pamoate

Cancer Res. 26, 1625-1632 (1966)

SCHAUER, A., KRZENCIESSA, S., KUNZE, E.: Histochemische Untersuchungen bei der Cancerisierung mit Diäthylnitrosamin an der Rattenleber

Verh. d. Dtsch. Ges. Path. 50. Tag. Heidelberg (1966)

SCHAUER, A. und KUNZE, E.: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin

Z. Krebsforsch. 70, 252-266 (1968)

SCHAUER, A., KUNZE, E., KRÜSMANN, G., SPIELMANN, J.: Vergleichende enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen über das biologische Verhalten menschlicher und tierischer Harnblasentumoren

Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 577 (1971)

SCHMÄHL, D. und THOMAS, C.: Experimentelle Untersuchungen zur "Syncarcinogenese". 4. Mitteilung. Versuche zur Krebserzeugung an Ratten bei gleichzeitiger oraler Gabe von Diäthylnitrosamin und 4-Dimethylaminostilben

Z. Krebsforsch. 67, 135-140 (1965)

SKORYNA, S.C., ROSS, R.C., RUDIS, L.A.: Histogenesis of Sebaceous Gland Carcinomas Produced in Rats by 2-Acetylaminofluorene

J. Exp. Med. 94, 1-8 (1951)

SNYDER, F., MALONE, B., BLANK, M.: Enzymic Synthesis of o-Alkyl-Bonds in Glycerolipids

J. Biol. Chem. 245, 1790-1799 (1970)

SPITZ, S., MAGUIGAN, W.H., DOBRINER, K.: The Carcinogenic Action of Benzidine

Cancer (Philad.) 3, 798-804 (1950)

SYMEONIDIS, A.: Tumors Induced by 2-Acetylaminofluorene in Virgin and Breeding Females of Five Strains of Rats in their Offspring

J. Nat. Cancer Inst. 15, 539-549 (1954)

TANNENBAUM, A., VESSELINOVITCH, S.D., MALTONI, C., MITCHELL, D.S.: Multipotential Carcinogenicity of Urethan in the Sprague-Dawley Rat

Cancer Res. 22, 1362-1371 (1962)

TAWFIC, H.N.: Studies on Ear Duct Tumors in Rats. Part I.: Incidence and Pathogenesis of 4-Dimethylaminostilbene-Induced Tumors in Donryu-Rats

Acta Path. Jap. 15, 247-253 (1965)

TRINKLER, H.: Das pathologisch-histologische Labor

Hallwag Verlag Bern

URBAN, F.H., WINKELMANN, R.K.: Sebaceous Malignancy
Arch. Derm. 84, 63-72 (1961)

VAKHTER, H.T., KOOL, M.A.: On the Dynamics of Histochemical Changes in the Skin when Precancerous Conditions Develop

Vestnik Dermatologii Venerologii 41, 46-49 (1967)

WALPOLE, A.L., WILLIAMS, M.H.C., ROBERTS, D.C.:
The Carcinogenic Action of 4-Aminodiphenyl and 3,2-Dimethyl-4-aminodiphenyl

Brit. J. Industr. Med. 9, 255-263 (1952)

WHEATLEY, V.R.: Sebum: Its Chemistry and Biochemistry
Amer. Perfumer 68, 37 (1956)

WHEATLEY, V.R. and JAMES, A.T.: Studies of Sebum 7
The Composition of the Sebum of Some Common Rodents

Biochem. J. 65, 36 (1957)

ZACKHEIM, H.S.: Tumors of the Skin
Aus: Pathology of Tumors of Laboratory Animals. Vol. I
Tumors of the Rat, Part 1. Editor in Chief: V.S. Turusov

International Agency for Research on Cancer -Lyon 1973-

Herrn Prof. Dr.med. I. Herrmann danke ich sehr für die Überlassung des Themas und die Hilfen bei der Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr.med. W. Kley danke ich für die Übernahme des Korreferats.

L E B E N S L A U F

Am 27. Mai 1949 wurde ich, Martin Karl Ruppert, als 2. Kind von Ernst Ruppert und seiner Ehefrau Rita, geb. Brand in 8781 Rieneck geboren.

Von 1955 bis 1960 besuchte ich dort die Volksschule, anschließend bis zum Abitur im Jahre 1969 das Humanistische Gymnasium in Lohr am Main.

Im Herbst 1969 begann ich in der Stadt Apotheke zu Gemünden am Main eine Praktikantenzeit zur Ausbildung eines Apothekers.
1971 beendete ich die Ausbildung mit dem Bestehen der pharmazeutischen Vorprüfung in Würzburg.

Bis zur Aufnahme des Medizinstudiums im Sommersemester 1972 arbeitete ich in der Kreuzbergapotheke zu Berlin als vorgeprüfter Apothekeranwärter.

Nach der Aufnahme des Studiums der Medizin an der Universität Würzburg, legte ich während der vorklinischen Ausbildung die naturwissenschaftliche Vorprüfung im März 1973 und die ärztliche Vorprüfung im Oktober 1974 ab.

Die klinische Ausbildung beendete ich mit dem Bestehen des dritten Abschnitts der ärztlichen Prüfung im Oktober 1978.
Am 31. Oktober 1978 wurde mir die ärztliche Approbation erteilt.

Nach Beendigung des Grundwehrdienstes als Stabsarzt bei der Bundeswehr, begann ich im Mai 1980 mit der Weiterbildung im Fachgebiet Anaesthesiologie und Intensivmedizin am Caritas-Krankenhaus in 6990 Bad Mergentheim.

699o Bad Mergentheim, den 05.04.1982

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80